

## NOVEL ANTIBODIES FOR CONFERRING PASSIVE IMMUNITY AGAINST INFECTION BY A PATHOGEN IN HUMANS

**Publication number:** JP8500979 (T)

**Publication date:** 1996-02-06

**Inventor(s):**

**Applicant(s):**

**Classification:**





**- international:** *C12N15/02; A61K39/395; A61P33/02; C07H21/04; C07K16/20; C12N5/10; C12N15/09; C12P21/08; A61K38/00; A61K39/00; C12R1/91; C12N15/02; A61K39/395; A61P33/00; C07H21/00; C07K16/18; C12N5/10; C12N15/09; C12P21/08; A61K38/00; A61K39/00; (IPC1-7): C12N15/09; A61K39/395; C07H21/04; C07K16/20; C12N5/10; C12N15/02; C12P21/08; C12P21/08; C12R1/91*

**- European:** C07K16/20A

**Application number:** JP19930507519T 19930908

**Priority number(s):** WO1993US08435 19930908; US19920941654 19920909

### Also published as:

 WO9405690 (A1)  
 EP0659192 (A1)  
 EP0659192 (A4)  
 ZA9306260 (A)  
 AU4851193 (A)

more >>

Abstract not available for JP 8500979 (T)

Abstract of corresponding document: **WO 9405690 (A1)**

Proteins and peptides derived from a murine (*P. falciparum*) monoclonal antibody, including synthetic humanized variable light chain and variable heavy chain sequences, CDR peptides, and humanized antibodies useful in therapeutic methods and compositions for conferring passive immunity to infection by a malaria-causing parasite are provided.; Proteins and peptides derived from a murine *P. falciparum* monoclonal antibody, including synthetic humanized variable light chain and variable heavy chain sequences, CDR peptides, and humanized antibodies useful in therapeutic methods and compositions for conferring passive immunity to infection by a malaria-causing parasite are provided.

~~~~~  
Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

|                           |         |           |                          |
|---------------------------|---------|-----------|--------------------------|
| (51) Int.Cl. <sup>9</sup> | 識別記号    | 庁内整理番号    | F I                      |
| C 1 2 N 15/09             | Z N A   |           |                          |
| A 6 1 K 39/395            |         | Q 9284-4C |                          |
|                           | A E B D | 9284-4C   |                          |
|                           |         | 9281-4B   | C 1 2 N 15/00            |
|                           |         | 9281-4B   | Z N A A                  |
|                           |         |           | C                        |
|                           | 審査請求    | 未請求       | 予備審査請求 有 (全 97 頁) 最終頁に続く |

|               |                                                                                                                   |          |                                       |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|---------------------------------------|
| (21) 出願番号     | 特願平6-507519                                                                                                       | (71) 出願人 | スミスクライン・ピーチャム・コーポレーション                |
| (86) (22) 出願日 | 平成5年(1993)9月8日                                                                                                    |          | アメリカ合衆国ペンシルベニア州19406-                 |
| (85) 翻訳文提出日   | 平成7年(1995)3月6日                                                                                                    |          | 2799キングオブプラシヤ・スウィードランド                |
| (86) 国際出願番号   | P C T / U S 9 3 / 0 8 4 3 5                                                                                       |          | ドロード709                               |
| (87) 国際公開番号   | W O 9 4 / 0 5 6 9 0                                                                                               | (71) 出願人 | ユナイテッド・ステイツ・オブ・アメリカ・アズ・リプレゼンテッド・バイ・ザ・ |
| (87) 国際公開日    | 平成6年(1994)3月17日                                                                                                   |          | セクレタリー・オブ・ザ・ネイビー                      |
| (31) 優先権主張番号  | 0 7 / 9 4 1, 6 5 4                                                                                                |          | アメリカ合衆国バージニア州22217-5660               |
| (32) 優先日      | 1992年9月9日                                                                                                         |          | アーリントン・ノースクインシーストリート800・ボールストンタワーワン   |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (U S)                                                                                                          | (74) 代理人 | 弁理士 小田島 平吉                            |
| (81) 指定国      | EP (A T, B E, C H, D E, D K, E S, F R, G B, G R, I E, I T, L U, M C, N L, P T, S E), A U, C A, J P, K R, N Z, U S |          | 最終頁に続く                                |

(54) 【発明の名称】 ヒトにおいて病原体による感染に対する受動免疫を付与するための新規の抗体

(57) 【要約】

マラリアの原因となる寄生虫による感染に対する受動免疫を付与するための治療法および組成物において役立つ、合成ヒューマニズド可変軽鎖および可変重鎖配列、CDRペプチド、およびヒューマニズド抗体を初めとするマウスP. フアルキバルムモノクローナル抗体から得られる蛋白質およびペプチドを提供する。

【特許請求の範囲】

1. 第二融合パートナーヌクレオチド配列にフレーム内で操作的に連結させた、抗-プラスモディウム抗体の抗原特異性を有するアミノ酸配列をコード化する第一融合パートナーヌクレオチド配列を含む融合分子。
2. 該第一融合パートナーが、プラスモディウム抗体、その断片あるいは対立遺伝子変異物もしくは修正物を起源として得られる相捕性決定領域を含むアミノ酸配列をコード化する合成免疫グロブリン可変領域ヌクレオチド配列である、請求の範囲 1 に記載の分子。
3. 該第二融合パートナーが異種の免疫グロブリン可変フレームワーク領域である、請求の範囲 2 に記載の分子。
4. 該可変領域ヌクレオチド配列が、重鎖可変領域および軽鎖可変領域からなる群より選択される、請求の範囲 2 に記載の分子。
5. (a) 図 5 (配列番号 11) の重鎖ヌクレオチド配列、  
(b) 図 6 (配列番号 13) の重鎖ヌクレオチド配列、  
(c) 図 2 (配列番号 5) および図 3 (配列番号 7) の軽鎖ヌクレオチド配列、  
(d) 図 3 (配列番号 7) の軽鎖ヌクレオチド配列、ならびに、  
(e) それらの機能的断片、  
からなる群より選択される、請求の範囲 4 に記載の分子。
6. 該第一融合パートナーヌクレオチド配列が、マウス NFS 2 の抗原特異性を特徴とする

- (a) AGCTATGCCATGAGC: (配列番号 15)、  
(b) GAAATTAGTGATGGTGGTAGTTACACCTACTATCCA

- GACACTGTGACGGGC: (配列番号 17)、
- (c) CTCATCTACTATGGTTACGACGGGTATGCTATGGAC  
TAC: (配列番号 19)、
- (d) AAGAGCTCTCAGAGCCTTTTATACTCGAGCAATCAA  
AAGAATTACTTGGCC: (配列番号 21)、
- (e) TGGGCGTCAACTAGGGAATCT: (配列番号 23)、
- (f) CAGCAATATTATAGCTATCCGCGGACG: (配列番号 25)、
- (g) AGCTATGCCATGTCT: (配列番号 32)、
- (h) AAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGTAGCAATCAAA  
AGAATTACTTGGCC: (配列番号 34)、
- (i) TGGGCATCCACTAGGGAATCT: (配列番号 36)、
- (j) CAGCAATATTATAGCTATCCTCGGACG: (配列番号 38)、
- (k) TGGGCGTCGACTAGGGAATCT: (配列番号 41)、

からなる群から選択される配列ならびにそれらの対立遺伝子変異物もしくは修正物、  
そして場合によっては該核酸配列が所望の抗体フレームワーク領域もしくはプラスミドベクター内への挿入を容易にするための制限部位を含む、請求の範囲 4 に記載の分子。

7. プラスモディウム抗体、その断片あるいは対立遺伝子変異物もしくは修正物を起源として得られる相補性決定領域を含むアミノ酸配列をコード化する合成免疫グロブリン可変領域ヌクレオチド配列。

8. 選択されたプラスモディウム種上のエピトープに結合することが可能なプラスモディウム抗体から得られる第一アミノ酸配列を含み、そして該配列が異種の第二アミノ酸配列に融合させてある該抗体の抗原

特性を有する、融合蛋白質。

9. 該第一アミノ酸配列が、

(a) 該抗体の可変重鎖配列、  
(b) 該抗体の可変軽鎖配列、  
(c) 該抗体の相補性決定領域、および  
(d) (a) から (c) までの機能的断片、  
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求の範囲 8 に記載の融合蛋白質。

10. 該融合蛋白質が、

(a) 該プラスモディウム抗体から得られる可変領域の少なくとも断片を含む重鎖および軽鎖の全長部分を有する、全工学的処理の施された抗体、  
(b) (a) の工学的処理の施された抗体の  $F_{ab}$  もしくは  $(F_{ab}')_2$  断片、  
(c) (a) の工学的処理の施された抗体から得られる二量体形態の重鎖、  
(d) (a) の工学的処理の施された抗体の  $F_v$  断片、および  
(e) (a) の工学的処理の施された抗体から得られる一本鎖抗体、  
からなる群より選択され、そして該蛋白質が該プラスモディウム抗体と同一の特異性を有する、請求の範囲 8 に記載の融合蛋白質。

11. 非ヒト P. ファルキパルムモノクローナル抗体の可変重鎖領域から得られる相補性決定領域を含む重鎖を含む、工学的 P. ファルキパルム抗体。

12. 該非ヒト CDR が、

(a) 選択されたヒト抗体重鎖フレームワークおよび不変領域、ならびに  
(b) 該抗体からの重鎖フレームワークおよび選択されたヒト抗体からの不変領域、  
からなる群の内の一つと操作的に結合させてある、請求の範囲 11 に記載の抗体。

13. (a) 選択されたヒト抗体の軽鎖フレームワークおよび不変領域と操作的に結合させて該モノクローナル抗体の可変軽鎖領域から得られる CDR を含む軽鎖、

(b) 該抗体からの軽鎖フレームワークおよび選択されたヒト抗体からの不変領域、

(c) 該抗－プラスモディウム抗体からの全軽鎖、ならびに

(d) 選択されたヒト抗体からの全軽鎖、  
からなる群より選択される軽鎖を更に含む、請求の範囲 11 に記載の抗体。

14. 該重鎖が、図 5 (配列番号 12)、図 6 (配列番号 14)、P f h z h c 2-3 (配列番号 14)、および P f h z h c 2-6 (配列番号 42) の配列から選択される可変重鎖配列を含む、請求の範囲 11 に記載の抗体。

15. 該軽鎖が、図 2 (配列番号 6) および図 3 (配列番号 8) の配列から選択される可変軽鎖配列を含む、請求の範囲 13 に記載の抗体。

16. 軽鎖相補性決定領域が、

(a) LysSerSerGlnSerLeuLeuTyrSerSerAsn  
GlnLysAsnTyrLeuAla: (配列番号 22)、

(b) TrpAlaSerThrArgGluSer: (配列番号 24)、  
および

(c) GlnGlnTyrTyrSerTyrProArgThr: (配列番号 26)、  
からなる配列の内の一つもしくは複数から選択される、請求の範囲 13 に記載の抗体。

17. 該重鎖相補性決定領域が、以下に示す、

(a) SerTyrAlaMetSer: (配列番号 16)、

(b) GluIleSerAspGlyGlySerTyrThrTyrTyrPro  
AspThrValThrGly: (配列番号 18)、

および

(c) LeuIleTyrTyrGlyTyrAspGlyTyrAlaMet  
AspTyr: (配列番号 20)、

からなる配列の内の一つもしくは複数から選択される、請求の範囲 11 に記載の抗体。

18. NFS 2 の抗原特異性を特徴とする以下に示す、

- (a) SerTyrAlaMetSer: (配列番号16)、
- (b) GluIleSerAspGlyGlySerTyrThrTyrTyr  
ProAspThrValThrGly: (配列番号18)、
- (c) LeuIleTyrTyrGlyTyrAspGlyTyrAlaMet  
AspTyr: (配列番号20)、
- (d) LysSerSerGlnSerLeuLeuTyrSerSerAsn  
GlnLysAsnTyrLeuAla: (配列番号22)、
- (e) TrpAlaSerThrArgGluSer: (配列番号24)、
- (f) GlnGlnTyrTyrSerTyrProArgThr: (配列番号26)、

およびそれらのアナログよりなる群から選択される、抗-P. ファルキパルム相補性決定領域ペプチド。

19. 合成免疫グロブリン可変鎖アミノ酸配列の抗-プラスモディウム好転特異性を共有する異種可変鎖フレームワーク内のプラスモディウム抗体を起源として得られる相補性決定領域、その断片、もしくはアナログを含む、合成免疫グロブリン可変鎖アミノ酸配列。

20. 図5 (配列番号12)、図6 (配列番号14)、図2 (配列番号6)、および図3 (配列番号8) のアミノ酸配列からなる群より選択される、請求の範囲19に記載の配列。

21. 配列Pro Asn Ala Asn Pro Asn (配列番号27) を含むP. ファルキパルムエピトープに結合することが可能であってNFS2以外であるモノクローナル抗体、そのF<sub>ab</sub>断片、もしくはその(F<sub>ab</sub>')<sub>2</sub>断片。

22. 請求の範囲8から21までの内のいずれかに記載の融合蛋白質もしくは抗体、および薬剤学的に許容される担体もしくは賦形剤を含む、薬剤学的予防用組成物。

23. 該蛋白質がヒューマナイズドP. ファルキパルム抗体である、請求の範囲22に記載の薬剤学的組成物。

24. 選択された宿主細胞内での請求の範囲1から7までの内のいずれかの核酸配列の複製および発現を指令することが可能な調節制御配列と操作的に結合させてある該核酸配列を含む、組換えプラスミド。

25. 請求の範囲1から7までの内のいずれかの核酸配列を含む少なくとも一つの組換えプラスミドでトランスフェクトさせた哺乳類細胞株。

26. 適切な条件下で、請求の範囲1から7までの内のいずれかの核

酸配列を含む少なくとも一つの組換えプラスミドでトランスフェクトさせた哺乳類細胞株を培養して相補的重鎖および軽鎖の発現および構築を可能にさせ、そしてその細胞培養物から構築済み抗体を回収することを含む、工学的処理の施された抗体の産生方法。

27. プラスモディウム種による感染に対してヒトを受動的に保護するのに適する薬剤学的組成物の調製法における、請求の範囲8から21までの蛋白質もしくは抗体の利用。



#### 【発明の詳細な説明】

ヒトにおいて病原体による感染に対する受動免疫を付与するための新規の抗体  
発明の分野

本発明は、一般的には、マラリアの寄生虫を一例とする選択された病原体上の  
エピトープに対するモノクローナ抗体および組換え抗体、それらの抗体の製造お  
よび利用のための方法、ならびにそれらの抗体を利用する組成物の分野に関する  
。

#### 発明の背景

マラリアは重篤で広汎な疾患であり、原生動物の寄生虫属であるプラスモディ  
ウム (*Plasmodium*) の様々な種により引き起こされるものであり、そ  
れらの種には、P. ファルキパルム (*P. falciparum*)、P. ビバッ  
クス (*P. vivax*)、P. オーバーレ (*P. ovale*)、およびP. マラリ  
アエ (*P. malariae*) を例とするヒトに感染する4つの種が含まれる [例  
えば、V. Enea et al., *Science*, 225: 628-630 (1984)、を参照せよ]。マラリアは今日でも依然として世界的に最も広汎  
でそして致命的な疾患の内の一つであり、ベクター集団を抑制するための有効な  
ワクチンおよび計画の欠如、ならびに新規の薬剤耐性株がその理由となっている  
。マラリアの治療は概して4-アミノキノリン類のような予防薬にかなり頼って  
いる。しかしながら大半の場合には、P. ファルキパルムによる薬剤耐性、およ  
び一定の望ましくない副作用が生じることによ

りこれらの薬剤療法の効能が損なわれてしまっている。

マラリア予防薬の分野でのより多くの研究的試みが、プラスモディウム属の寄  
生虫の分裂体形態、具体的には環状分裂体 (*circumsporozoite*) (CS) 蛋白質にその焦点を絞ってきている [Clyde et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 24: 397 (1975); Rieck  
man et al., *Bull. WHO*, 57 (1): 261 (1979);  
および米国特許第4, 957, 869号]。数々のプラスモディウム種のCS蛋  
白質遺伝子もしくはその断片のクローニングおよび性質決定、ならびに大腸菌 (

E. coli) もしくはイースト宿主細胞内におけるそれらの組換え発現が報告されている。CS蛋白質の主要反復ドメインは免疫優性であり、つまり動物内に分裂体が注入されるとその動物は抗-反復抗体を産生する。ヒトにおいて検査された最初の抗-分裂体ワクチン候補物は、

(AsnAlaAsnPro)<sub>37</sub>(AsnValAspPro)<sub>4</sub> [配列番号 1]

からなる、P. ファルキパルムのCS蛋白質において見いだされた反復性エピートに基づくものであり、この配列は今日までに調査されている数々の種において非変異である。R32tet32と称され、NH<sub>2</sub>-Met-Asp-Pro-[ (Asn-Ala-Asn-Pro)<sub>15</sub> (Asn-Val-Asp-Pro)<sub>1</sub> ]<sub>2</sub>-Leu-Arg-Arg-Thr-His-Arg-Gly-Arg-His-His-Arg-Arg-His-Arg-Cys-Gly-Cys-Trp-Arg-Leu-Tyr-Arg-Arg-His-His-Arg-Trp-Gly-Arg-Ser-Gly-Ser-COOH [配列番号 2] からなるワクチン候補物を利用する臨床試験により、ヒトボランティアに

において分裂体刺激に対する予防反応がもたらされた [Ballou et al. , The Lancet, June 6, 1987, pp. 1277-1281 ; および 1986 年 8 月 27 日に公開され、引用することにより本明細書に取り込まれる欧州特許出願公開第 0192626 号を参照せよ]。

プラスモディウムの生活環の様々な段階からの蛋白質に対する数々のモノクローナル抗体 (mAb) が同定されており、そしてそれらがマウスおよびサルにおける受身伝達実験において効果を示すことが見いだされている [Y. Charo envit et al. , J. Immunol., 146 (3) : 1020-1025 (1990)]。しかしながら、マラリアの治療もしくは予防薬のための抗体の利用には欠点が存在する可能性がある。マウスもしくは他の動物の抗体をヒトに投与しても、迅速なクリアランスおよび毒性副作用を例とする、外因性抗体に対する不利なヒト免疫反応によりそれが制限されてしまうことがある。ヒトにおけるこのような免疫反応は、マウス抗体の免疫グロブリン不変および可変両領域に対して向けられていることが見いだされている。

マウス（および他の種）の抗体を改変させることにより、その親抗体への、ヒトを例とする所望の種における免疫反応の発生が減少するということを示唆する数々の技術が記載されている [例えば、1986年3月13日に公開された国際公開第86/01533号；1987年10月7日に公開された英国特許出願公開第2188638A号；Amit et al. , Science, 233: 747-753 (1986)；Queen et al. , Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86: 10029-10033 (1989)；1990年7月

26日に公開された国際公開第90/07861号、およびRiechmann et al. , Nature, 332: 323-327 (1988)、を参照せよ]。従来の技術により有望な実験技術が示唆されるものの、P. ファルキパルムのインビボでの増殖の有効な予防に必要な特性を兼ね合わせて保持する物質の提供方法を示したものは未だに存在していない。

マラリア寄生虫を例とする選択された病原体での感染に対する免疫を提供する別の方法、具体的には有効な短期的予防を提供することが可能な予防剤のための技術の必要性が依然として残されている。

#### 発明の要約

ある態様においては、本発明は、病原体上の選択されたエピトープに対するモノクローナル抗体からの相補性決定領域（CDR）ペプチド、ならびにそれらのペプチドの断片およびアナログを提供する。この抗体は、プラスモディウムのエピトープ、具体的にはCS反復領域エピトープもしくはその断片に結合可能であることが好ましく、その一例はマウス抗-P. ファルキパルムmAb NFS2である。これらのCDRは、それらの取得元であるmAbの抗原結合特異性を保持している。

他の態様は、選択されたそのような抗体の軽鎖もしくは重鎖を起源として取得される一つもしくは複数のCDR配列を含む、単離された、天然もしくは合成の人間化（ヒューマナイズド）免疫グロブリン軽鎖もしくは重鎖可変領域アミノ酸配列を提供する。

更に他の態様においては、本発明は、抗－プラスモディウム抗体の可変軽鎖および／または重鎖から得られる第一アミノ酸配列、抗－プラスモディウムCDR、それらの機能的断片もしくはアナログを含む融合蛋

白質を提供する。第一選択のアミノ酸配列は、第二選択のアミノ酸に操作的に連結または融合されている。これらの融合蛋白質は、第一選択のアミノ酸の取得元であるmAbの抗原結合特異性を特徴とする。

本発明の更に別の態様は、P. ファルキパルム反復領域を一例とする選択されたプラスモディウムエピープについての特異性を有する工学的処理の施された抗体を提供する。

他の態様においては、本発明は、mAb NFS2のエピトープを用いて、免疫グロブリンレパートリー (immunoglobulin repertoire) のいずれの種から得られるハイブリドマ産物、あるいはヒトもしくはマウスの抗体の組み合わせライブラリー (combinatorial libraries) をスクリーニングすることにより得られるP. ファルキパルム抗体もしくはその断片を提供する。

更に別の態様においては、本発明は、先に記述の工学的処理の施された抗体もしくは抗－プラスモディウムmAbのF<sub>ab</sub>断片を提供する。

更に追加的な態様として、本発明は、本明細書に記載される蛋白質、ペプチド、抗体、および断片をコード化する核酸配列、ならびにこれらの配列の内の一つもしくは複数を含むプラスミド、それらで形質転換させた宿主細胞、および哺乳類細胞を例とする宿主細胞中でこれらのヌクレオチド配列発現の産物を産生させるための方法を提供する。

本発明により提供される他の態様には、本明細書に記載される少なくとも一つの蛋白質、抗体、ペプチド、もしくは断片の有効量、ならびに薬剤学的に許容される担体もしくは賦形剤を含む、マラリア寄生虫にさらされたことが予期されるヒトに受動免疫を付与するための薬剤学的組成物および予防法がある。

本発明の他の態様および利点は、以下に示す本発明の好ましい態様の詳細な記

述において更に詳しく記載される。

#### 図面の簡単な記述

図1は、mAb NFS2の天然の軽鎖可変領域のアミノ酸（配列番号4）およびヌクレオチド（配列番号3）配列を示す。

図2は、抗－プラスモディウムCDR（配列番号21－26）を含む合成ヒューマナイズド軽鎖可変領域Pf h z l c 1－1のアミノ酸（配列番号6）およびヌクレオチド（配列番号5）配列を示す。CDRには下線を施した。

図3は、合成ヒューマナイズド軽鎖可変領域Pf h z l c 1－2のアミノ酸（配列番号8）およびヌクレオチド（配列番号7）配列を示す。

図4は、mAb NFS2の天然の重鎖可変領域のアミノ酸（配列番号10）およびヌクレオチド（配列番号9）配列を示す。

図5は、合成ヒューマナイズド重鎖可変領域Pf h z h c 2－4のアミノ酸（配列番号12）およびヌクレオチド（配列番号11）配列を示す。

図6は、合成ヒューマナイズド重鎖可変領域Pf h z h c 2－3のアミノ酸（配列番号14）およびヌクレオチド（配列番号13）配列を示す。

図7は、哺乳類細胞において合成抗－プラスモディウム重鎖を発現させるのに利用したプラスミドPf h z h c 2－3－P c dの略図である。このプラスミドは、pUC19のバックグラウンド中に、ベーターラクタマーゼ（Beta－l a c）遺伝子、SV40の複製起点（SV40）、サイトメガロウイルスのプロモーター配列（CMV）、合成重鎖Pf h

z h c 2－3（配列番号13）、ウシ成長ホルモン（BGH）からのポリAシグナル、ベーターグロブリンプロモーター（b e t a g l o p r o）、ジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子（DHFR）、および他のBGH配列のポリAシグナルを含む。

図8は、哺乳細胞において合成軽鎖を発現させるのに利用したプラスミドPf h z l c 1－1－P c nの略図である。このプラスミドは重鎖ではなく合成ヒューマナイズド軽鎖Pf h z l c 1－1（配列番号5）を、そしてDHFRの代わりにネオマイシン遺伝子（Neo）を含む点が図7のものとは異なる。

図9は、合成ヒューマナイズド重鎖可変領域P f h z h c 2-6のヌクレオチド（配列番号42）およびアミノ酸（配列番号43）配列を示す。

#### 発明の詳細な記述

本発明は、例えば伝染病抑制のため、および病原体にさらされたことが予期されるヒトによる利用のための、免疫化されたヒトにおいて選択された病原体によるヒト感染に対する短期的な予防的免疫状態を付与することが可能な予防剤を提供する。組換え抗体もしくは工学的処理の施された抗体、好ましくはキメラ抗体、ヒューマナイズド抗体、もしくはヒトモノクローナル抗体は、そのような受動的予防用蛋白質として利用することが可能である。予防用組成物中のこれらの蛋白質は、病原体への予期される暴露以前に投与することができ、そして短期予防を媒介するために追従用量（follow-up doses）を毎日接種する必要はない。

以下に示す記載はヒトにおけるマラリアの作用因子である病原体P.

ファルキパルムの分裂体形態への受動的予防を付与することが可能な抗体を具体的に述べているものの、本明細書において記載される本発明は、その病原体のいずれかの特別な段階に、あるいはその病原体のみに制限される訳ではない。本発明の技術により、当業者は、血液段階、肝臓段階、もしくは生殖母細胞段階のものを初めとする他種のパラモディウムを例とする、他の選択された病原体に対する他の組換え抗体を作製することが可能となる。p. マラリアエ（P. malariae）、P. ビバックス（P. vivax）、およびP. オバーレ（P. ovale）を例とする他のヒト感染性寄生虫の環状分裂体CS遺伝子に対する本発明の抗体を本発明に従って作製して、これらの寄生虫感染に対する有用な受身伝達蛋白質を提供することもできる。同様に、本発明に従って調製される受動療法剤は、他の感染性作用物質、ウイルス、および細菌などに関連する可能性がある。その上このような抗体は感染症の急性段階の治療のための治療剤として有用である可能性もある。

#### I 定義

「第一融合パートナー」は、マウス抗体NFS2であることが好ましい、選択

された高力価抗体の抗原結合特異性を有する、免疫グロブリン重鎖、軽鎖、それらの鎖の内の一つもしくは両方の鎖からの可変領域、およびそれらについてのCDRを初めとするそれらの機能的断片、あるいはそれらのアナログの内の全てもしくは一部分であることができるアミノ酸配列をコード化する核酸配列を意味する。

「第二融合パートナー」は、第一融合パートナーがフレーム内で融合されているかあるいは場合によっては通常のリンカー配列により融合されている蛋白質もしくはペプチドをコード化する別のヌクレオチド配列

を意味する。このような第二融合パートナーは、第一融合パートナーとは異種であることが好ましい。第二融合パートナーは、適切なヒト不変領域もしくはフレームワーク領域の内の全てもしくは一部分を例とする、目的の第二抗体領域をコード化する核酸配列を含むことができる。

「融合分子」は、第二融合パートナーに操作的に連結させた第一融合パートナーの産物を意味する。融合パートナーの「操作的連結部」は、供与体抗体からの抗-P<sub>H</sub> ファルキパルム配列（第一融合パートナー）の抗原特異性、および第二融合パートナーの所望の特徴の発現を可能にする結合として特定される。例えば、場合によってはアミノ酸リンカーをコード化する核酸配列を使用することができるし、あるいは第二融合パートナーへのフレーム内での融合を介する連結であることもできる。

「融合蛋白質」は、選択された宿主細胞内の融合分子の発現により取得することができる融合分子によりコード化される蛋白質を意味する。このような融合蛋白質は、工学的処理の施された抗体であることができ、それらの例は、キメラ抗体もしくはヒューマナイズド抗体、あるいは免疫グロブリンもしくは非免疫グロブリン蛋白質などに融合させた本明細書中で同定されるいずれかの抗体領域である。

「供与体抗体」は、第一融合パートナーに、それ自体の天然のもしくは修正を加えた可変軽鎖および／または重鎖、それらの可変領域、それらのCDR、もしくはそれらの他の機能的断片を付与し、融合分子および融合蛋白質にその供与体

抗体の抗原特異的特性を提供する抗体（ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、もしくは組換え抗体）を意味する。

「受容体抗体」は、第二融合パートナーに、それ自体の可変重鎖およ

び／または軽鎖フレームワーク領域ならびに／あるいはそれ自体の重鎖および／または軽鎖不変領域の全てもしくは一部分を付与する、供与体抗体にとっては異種であるが、治療すべき患者（ヒトもしくは他の動物）にとっては同種である抗体（ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、もしくは組換え抗体）を意味する。

「CDR」は、重鎖および軽鎖の超可変領域である、ある抗体の相補性決定領域アミノ酸配列として定義される。CDRは、抗原もしくはエピトープへの抗体結合のための大半の接触残基を提供する。本発明における目的のCDRは供与体抗体可変重鎖および軽鎖配列から得られ、そしてこれらの取得元である供与体抗体と同一の抗原結合特異性を共有もしくは保持する天然のCDRの機能的断片およびアナログを含む。

「抗原結合特異性を共有する」とは、例えば、mAb NFS 2が所定のレベルの抗原親和性を特徴とし、そして適切な構造環境にあるNFS 2の核酸配列によりコード化されるCDRがより低い親和性を有することがあるとしても、それにもかかわらず、このような環境においてはNFS 2のCDRはNFS 2と同一のエピトープ（一つもしくは複数）を認識する可能性があることを意味する。

「機能的断片」は、断片の取得元である抗体と同一の抗原結合特異性を保持する部分的CDR配列、あるいは部分的重鎖もしくは軽鎖可変配列である。

「アナログ」は、少なくとも一つのアミノ酸の置換、アミノ酸の修飾または化学的置換により修正されるアミノ酸もしくはペプチドであるが、ただし、その修正によってもそのアミノ酸配列は、未修飾配列の抗原特異性を一例とする生物学的特徴を保持することが可能である。

「対立遺伝子の変更もしくは修正」は、本発明のアミノ酸もしくはペプチド配列をコード化する核酸配列における改変である。このような変更もしくは修正は



、遺伝子コードの縮重に起因することがあるか、あるいは所望の特徴を提供するために慎重に工学的に作製することができる。これらの変更もしくは修正はコード化されるアミノ酸配列のいずれかのものの改変をもたらすことも、あるいはもたらさないこともある。

「工学的処理の施された抗体」は、ある種の融合蛋白質であり、すなわち選択された受容体抗体の軽鎖および／または重鎖可変ドメインの一部分が、選択されたエピトープについての特異性を有する一つもしくは複数の供与体抗体からのCDRの類似部分により置換される合成抗体（一例では、キメラ抗体もしくはヒューマナイズド抗体）である。これらの工学的処理の施された抗体もやはり、供与体抗体の結合特異性を保持させる目的での、受容体抗体の軽鎖および／または重鎖可変ドメインフレームワーク領域をコード化する核酸配列の改変を特徴とすることがある。これらの抗体は、受容体抗体からの免疫グロブリン不変領域および可変フレームワーク領域、ならびに本明細書に記載されるプラスモディウム供与体抗体からの一つもしくは複数のCDRを含むことができる。本発明の工学的処理の施された抗体は組換えDNA技術により産生されるであろう。

「キメラ抗体」は、ヒト（もしくは他の異種動物）受容体mAbから得られる軽鎖および重鎖不変領域と結合させてある非ヒト供与体mAbから得られる天然の可変領域軽鎖および重鎖（CDRおよびフレームワーク領域の両方）を含むある種の工学的処理の施された抗体を意味する。

「ヒューマナイズド抗体」は、非ヒト供与体免疫グロブリンから得ら

れるそれ自体のCDRならびに／あるいはそれ自体の軽鎖および／または重鎖可変ドメインフレームワーク領域の他の部分を有する工学的処理の施された抗体を意味するが、ただし、この分子の残りの免疫グロブリン由来部分は一つもしくは複数のヒト免疫グロブリンから得られる。このような抗体には、供与体もしくは受容体の未修正軽鎖もしくはキメラ軽鎖と結合させてあるヒューマナイズド重鎖、あるいはその逆を特徴とする工学的処理の施された抗体も含まれる。

「エフェクター剤」は、融合蛋白質、および／または供与体抗体の天然もしくは合成の軽鎖もしくは重鎖、あるいは供与体抗体の他の断片を通常の方法により

結合させることができる非蛋白質性担体分子を意味する。このような非蛋白質性担体は、ポリスチレンもしくは他のプラスチックビーズを例とする診断分野において用いられる通常の担体、あるいは医学分野において有用であり、そしてヒトおよび動物に投与するのに安全である他の非蛋白質性物質であることができる。他のエフェクター剤は、重金属原子を配位させるための大環状化合物、もしくはリシンのような毒素であることができる。このようなエフェクター剤は抗プラスモディウム由来アミノ酸配列の半減期を増加させる、もしくはその特性を付与するのに有用である。

#### 11. 抗プラスモディウム抗体

本発明の組換え抗体がマラリアを誘導する病原体に関連する場合にこのような抗体を構築するのに使用するには、非ヒト種を使用してヒトに感染することが可能なプラスモディウム株からの抗原を提示することにより所望の供与体抗体を作製することができる。通常のハイブリドーマ技術を利用することにより、選択された抗原に対する非ヒトmAbを分

泌するハイブリドーマ細胞株が提供される。一例としては、本発明のキメラ抗体もしくはヒューマナイズド抗体を開発する際の用途に利用することができる所望の抗体としてマウスmAb NFS 2が同定されている。

マウスIgG mAb NFS 2は、P. ファルキパルムCS蛋白質の反復領域への抗原結合特異性を特徴とする。インビトロでのアッセイにおいては、この抗体は分裂体のヒト肝細胞もしくは肝癌細胞内への侵入を予防した。マウスモデルにおいては類似抗体がマラリアに対する受動予防を付与した。mAb NFS 2の産生は、以下に示す実施例1においてその詳細が記載されている。

本発明は、実例として示したNFS 2 mAbもしくはその超可変配列の利用に制限される訳ではない。以下の説明においてはいずれも供与体mAbはNFS 2として示されているが、この表示は記述の簡便化のためのみに使用されるに過ぎない。他の抗プラスモディウム抗体をこれに置き換えることができる。適切な抗体には、例えば、CS反復蛋白質に対するマウスmAb 2A10、もしくはR. A. Wirtz et al.、Bull WHO、65:39-45 (

1987)に記載される他のmAbがある。

分裂体もしくは選択されたプラスモディウム種の防御用エピトープでの免疫化により保護されている他の動物において産生される抗体を、防御的抗-プラスモディウム配列の源として本発明において同様に利用することができる。

例えば、P. フェルキパルムのCS蛋白質の反復領域蛋白質である、R32 t e t 32 NH<sub>2</sub>-Met-Asp-Pro-[ (Asn-A

l a-Asn-Pro)<sub>15</sub> (Asn-Val-Asp-Pro)<sub>1</sub>]<sub>2</sub>-Leu-Arg-Arg-Thr-His-Arg-Gly-Arg-His-His-Arg-Arg-His-Arg-Cys-Gly-Cys-Trp-Arg-Leu-Tyr-Arg-Arg-His-His-Arg-Trp-Gly-Arg-Ser-Gly-Ser-COOH (配列番号2)を利用して、その蛋白質についての結合特異性を有するヒトおよびマウスの両方のmAbを誘導することができる。この反復領域蛋白質は、マラリア感染に対する予防剤に役立つ中和抗体についてのスクリーニングに適する標的である。

同様に、NFS2が反応性を示すエピトープおよびそのアナログは、マラリアに対するヒトの短期予防のための予防用組成物の開発における利用のための、追加的なP. フェルキパルム抗体のスクリーニングおよび開発に役立つ可能性がある。目的となる他のエピトープには、プラスモディウム種の非反復フランキンゲン領域エピトープ、他の反復ドメイン、あるいは種々の肝臓ならびに血液および生殖段階のエピトープがある。これらのエピトープの知識により、当業者は、P. フェルキパルムもしくは他のプラスモディウム種に対する受動もしくは能動免疫を付与するのに適するであろう合成ペプチドを特定し、そして天然のペプチドを同定することが可能になる。またこの知識により、ヒトにおけるマラリア感染の予防に役立つmAbの産生も可能になる。

例えば、他のP. フェルキパルム抗体は、本明細書中に記載されるマウスmAbエピトープを使用して、ハイブリドーマもしくは他の組み合わせ体のライブラリー、あるいは抗体産生用ファージの発現物質 (display) をスクリーニングすることにより開発することができる

[W. D. Huse et al., *Science*, 246:1275-1281 (1988)]。ハイブリドーマ産物またはいずれかの種の免疫グロブリン産生体から得られる抗体を初めとする抗体収集物を、本明細書に記載される一つもしくは複数のエピトープを使用して、以下の実施例において記載されるもののような通常の競合アッセイによりスクリーニングすることができる。

マウスmAb、ヒトmAb、および組み合わせ抗体をコード化する遺伝子に制限される訳ではないが、これらの抗体を初めとする所望のエピトープに対して作製されそして通常の技術により産生される抗体を初めとする先に記載のもののような抗体は、供与体抗体として、抗体断片の源として、そしてヒトにおけるP. ファルキパルムに対する予防用組成物に役立つ可能性がある。プラスモディウム、具体的にはp. ファルキパルムのエピトープに対する応答により開発した抗体は所望の可変重鎖および／または軽鎖アミノ酸配列の供与体として役立つことができるか、あるいはその機能的断片（例えばCDR）が、工学的処理の施された抗体を初めとする融合蛋白質の開発に役立つことができるということが好ましい。従って本発明は、主に反復蛋白質およびそのアナログのアミノ酸配列からなるP. ファルキパルムペプチドに結合することが可能であくちてNFS 2以外である供与体抗体を利用することができる。

その上、本明細書において示されるmAb、分裂体の利用のために開発されそして分裂体に応答性を示す他のmAb、R32tet32（配列番号2）、あるいは本明細書において示される反復エピトープは、更に変更もしくは操作を行って追加的な所望の予防特性を加えることができる。

#### III. 抗体断片、アミノ酸、およびヌクレオチド配列

本発明は、mAb NFS 2から得られる単離された天然もしくは合成の可変軽鎖および可変重鎖配列、ならびにそこからのCDRおよび断片を提供するが、これらのものは、このmAbの抗原結合特異性を特徴とする融合蛋白質（工学的処理の施された抗体を含む）の設計に利用することができる。

NFS 2の天然の可変重鎖は、図4【配列番号9および10】において示されるアミノ酸配列およびそれをコード化する核酸配列を特徴とする。この鎖は、以

下に示すヌクレオチド配列および予想されるアミノ酸配列を有するCDRを特徴とする。CDR 1は、配列

AGCTATGCCATGTCT (配列番号 32)

SerTyrAlaMetSer (配列番号 33)

を特徴とする。天然のCDR 2の核酸およびアミノ酸配列は、各々配列番号 17 および 18

GAAATTAGTGATGGTGGTAGTTACACCTACTATCCAGACACTGTGACGGGC  
GluIleSerAspGlyGlySerTyrThrTyrTyrProAspThrValThrGly.

である。

天然のCDR 3は、各々

CTCATCTACTATGGTTACGACGGGTATGCTATGGACTAC  
LeuIleTyrTyrGlyTyrAspGlyTyrAlaMetAspTyr.

の核酸およびアミノ酸配列 [配列番号 19 および 20] を有する。

NFS 2の合成ヒューマナイズド可変重鎖は、図 5 [配列番号 9 および 10] ならびに図 6 [配列番号 13 および 14] に示されるアミノ酸配列およびそれをコード化する核酸配列を特徴とする。両合成鎖におい

ては、CDRは以下に示すヌクレオチドおよび予想アミノ酸配列を有する。ヌクレオチドの変化は、天然のCDRからのCDR 1において作製し、そして下線を施すことによりそれを表示した。合成CDR 1は、配列

AGCTATGCCATGAGC (配列番号 15)

SerTyrAlaMetSer (配列番号 16)

を特徴とする。合成CDR 2の核酸およびアミノ酸配列は、各々天然配列である配列番号 17 および 18 と相同である。合成CDR 3は天然のCDR 3が有するものと同じ核酸およびアミノ酸配列を有し、それらは各々配列番号 19 および 20 である。

NFS 2の天然の可変軽鎖は、図 1 [配列番号 3 および 4] のアミノ酸配列お

よびそれをコード化する核酸配列を特徴とする。この鎖は更に、以下に示されるヌクレオチドおよびアミノ酸配列を有するCDRを特徴とする。CDR 1は、各々配列番号34および35の核酸およびアミノ酸配列

AAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGTAGCAATCAAAAGAATTACTTGGCC  
LysSerSerGlnSerLeuLeuTyrSerSerAsnGlnLysAsnTyrLeuAla.

を特徴とする。

CDR 2は、各々配列番号36および37の核酸およびアミノ酸配列

TGGGCATCCACTAGGGAATCT  
TrpAlaSerThrArgGluSer.

を特徴とする。

CDR 3は、各々配列番号38および39の核酸およびアミノ酸配列

CAGCAATATTATAGCTATCCTCGGACG

GlnGlnTyrTyrSerTyrProArgThr.

を特徴とする。

NFS 2の合成ヒューマナイズド可変軽鎖は、図2【配列番号5および6】において示されるアミノ酸配列およびそれをコード化する核酸配列を特徴とする。この鎖は以下に示される予想アミノ酸配列を有し、そして示されるヌクレオチド配列によりコード化されるCDRを特徴とする。ヌクレオチドの変化は対応する天然のCDRからの3つのCDRにおいて作製し、そして下線を施すことによりそれらを示した。合成CDR 1は、各々配列番号21および22の核酸およびアミノ酸配列

AAGAGCTCTCAGAGCCTTTTATACTCGAGCAATCAAAAGAATTACTTGGCC  
LysSerSerGlnSerLeuLeuTyrSerSerAsnGlnLysAsnTyrLeuAla.

を特徴とする。

合成CDR 2は、各々配列番号23および24の核酸配列およびアミノ酸配列

TGGGCGTCAACTAGGGAATCT  
TrpAlaSerThrArgGluSer.

を特徴とする。

合成CDR 3は、各々配列番号26のアミノ酸配列および配列番号25のヌク

レオチド配列

CAGCAATATTATAGCTATCCGCGGACG  
GlnGlnTyrTyrSerTyrProArgThr.

を特徴とする。

NFS 2の他の合成ヒューマナイズド可変軽鎖は、図3〔配列番号7および8〕において示されるアミノ酸配列およびそれをコード化する核

酸配列を特徴とする。この鎖は図2における合成配列と相同のCDR 1および3を特徴とする。しかしながらヌクレオチドの変化は、対応する天然のCDR 2と、図2における合成のCDR 2との両方からのCDR 2において作製した。図2の合成配列からの変化を示すのに二重下線を利用した。合成CDR 2は、各々配列番号40および41の核酸およびアミノ酸配列

TGGGCGTCCACTAGGGAATCT  
TrpAlaSerThrArgGluSer.

を特徴とする。

本発明はまた、 $F_{ab}$ 断片もしくは $F_{(ab)'}_2$ 断片の利用をも含む。 $F_{ab}$ 断片は、全軽鎖および重鎖のアミノ末端部分を含み、そして $F_{(ab)'}_2$ 断片は、ジスルフィド結合により結合している2つの $F_{ab}$ 断片により形成される断片である。 $mAb$  NFS 2ならびにそれから得られそして以下に記載される工学的処理の施された抗体によつては、例えば適切な蛋白質分解酵素であるパパインおよび／またはペプシンでの $mAb$ の開裂あるいは組換え法を例とする通常的手段により取得することができる $F_{ab}$ 断片および $F_{(ab)'}_2$ 断片の源が提供される。 $F_{ab}$ 断片もしくは $F_{(ab)'}_2$ 断片は、マラリア病原体、具体的にはP. ファルキパルムによる感染に対するインビボでの予防剤として先に記載される $mAb$ の内のいずれかから取得することができる。

マウス $mAb$  NFS 2の可変鎖ペプチド配列、その可変鎖ペプチド配列、およびCDR、その機能的断片、 $F_{ab}$ 断片、およびアナログ、ならびにそれらをコード化する核酸配列は、所望の融合蛋白質、具体的には工学的処理の施された抗体をコード化する種々の融合分子を取得する

のに役立ち、そしてそれらを含む薬剂的組成物の調製および投与のための方法において役立つ可能性がある。

可変軽鎖および重鎖ペプチド配列、もしくはCDRペプチド、もしくはそれらの機能的断片をコード化する本発明の核酸配列、もしくはその断片は、未修正形態において用いるか、あるいはそれらを合成して所望の修正を導入する。mAb

NFS 2もしくは他の所望の抗-プラスモディウム抗体から得られる単離された天然もしくは合成の核酸配列は場合によっては制限部位を含むことがあり、これらの制限部位により、所望の抗体のフレームワーク領域をコード化する適切な核酸配列内への挿入もしくは連結反応、突然変位誘発を施したCDRとの連結反応、あるいは第二選択の融合パートナーをコード化する核酸配列との融合が可能になる。

遺伝子コードの縮重を考慮に入れると、供与体抗体の抗原特異性を共有する、例えば図1-6 [配列番号3-26]である本発明の種々の重鎖および軽鎖アミノ酸配列ならびにCDR配列、さらにそれらの機能的断片およびアナログをコード化する種々のコーディング配列を作製することができる。第二融合パートナーと操作的に結合させた際には、可変鎖ペプチド配列もしくはCDRあるいはその機能的断片をコード化する、本発明の単離されたもしくは合成の核酸配列あるいはその断片を使用して、本発明の融合蛋白質、すなわちキメラ抗体もしくはヒューマナイズド抗体、あるいは他の工学的処理の施された抗体を産生することができる。

これらの配列もやはり、CDRもしくはフレームワーク領域をコード化する核酸配列内における特有の変化の突然変異原性挿入に有用であり、

そして取得される修正された核酸配列もしくは融合核酸配列の発現用ベクター内への導入にも有用である。例えば、サイレントヌクレオチド置換をCDRをコード化するヌクレオチド配列内に作製して突然変異原性フレームワークの挿入を容易にするための制限酵素部位を作製するか、あるいは供与体抗体のものに類似するヌクレオチド位置にある選択されたフレームワークを修正することができる。このような突然変異には、より高い抗原結合親和性を付与する目的のために挿入



されるものが含まれる。

#### I V. 融合分子および融合蛋白質

本発明の融合分子は、工学的処理の施された抗体、キメラ抗体、およびヒューマナイズド抗体をコード化することができる。所望の融合分子は、第二融合パートナーに操作的に連結させてある、反復蛋白質のアミノ酸配列に対するプラスモディウム抗体の抗原特異性を有するアミノ酸配列をコード化する第一融合パートナーおよびそのアナログを含むことができる。第一融合パートナーの源は、図1〔配列番号3〕および図4〔配列番号9〕の核酸配列の源であるmAb NFS 2を一例とする選択されたmAbであることが望ましい。

融合分子は、図4〔配列番号9および10〕の天然の可変重鎖配列、その機能的断片もしくはアナログ、図1〔配列番号3および4〕の天然の可変軽鎖配列、その機能的断片もしくはアナログ、あるいは一つもしくは複数のNFS 2 CDR〔配列番号15-26〕のためのアミノ酸をコード化することができる。実例として示した他の融合分子は供与体mAbからの合成可変重鎖および／または軽鎖をコード化することができ、それらの鎖はP. ファルキパルム抗体の抗原特異性を有する図2

〔配列番号5および6〕、図3〔配列番号7および8〕、図5〔配列番号11および12〕、ならびに図6〔配列番号13および14〕の鎖のようなものである。

本発明の所望の融合分子は、マウス抗体NFS 2の重鎖および／または軽鎖の可変領域のCDR〔配列番号15-26〕の内の少なくとも一つ、そして好ましくは全てか、あるいはその機能的断片もしくはアナログを含むアミノ酸配列をコード化することを特徴とする。

第二融合パートナーを先に特定してあり、そしてこれはNFS 2の抗原特異性を有するCDR含有性配列にとって異種のペプチド、蛋白質、もしくはその断片をコード化する配列を含むことができる。一例は、目的の第二抗体領域をコード化する配列であり、そしてこれは場合によってはリンカー配列を含むことができる。

得られる融合分子は抗-P、ファルキパルム抗原特異性と、例えば組換え宿主からの分泌のような機能的特徴、あるいはその融合パートナー自体が治療用蛋白質をコード化している際には治療的特徴、あるいはその融合パートナーがそれ自体抗原特異性を有する蛋白質をコード化している場合には追加的な抗原的特徴のような第二融合パートナーの特徴との両方をコード化することができる。

第二融合パートナーを、いずれかのイソタイプもしくはクラスの免疫グロブリンフレームワークもしくは不変領域（好ましくはヒトのもの）などを例とする他の抗体から取得する場合には工学的処理の施された抗体が提供される。従って一例では、本発明の融合蛋白質は、重鎖および軽鎖の全長部分（図4〔配列番号9および10〕ならびに図1〔配列番号3および4〕）を有する全抗体分子を含むことができる。例えば本発

明は、所望のプラスモディウム mAb から得られる可変領域配列、CDRペプチド、その断片をコード化することができる単離された天然もしくは合成の核酸配列、 $F_{ab}$ 断片もしくは $F_{(ab)'}_2$ 断片のような工学的処理の施された抗体のいずれの断片、重鎖二量体、あるいは $F_v$ もしくは一本鎖抗体（SCA）のようなそのいずれの最小組換え断片、あるいはプラスモディウム mAb NFS2 を例とする選択された mAb と同一の特異性を有する蛋白質をコード化するいずれの他の蛋白質を含む。

第一融合パートナーもやはり先に記載のエフェクター剤と結合させることができ、共有結合による架橋構造により NFS2 をコード化する核酸に結合させることを例とする通常の方法により、このエフェクター剤に対して第一融合パートナーを操作的に連結させることができる。

第一融合パートナーと第二選択の融合パートナーとの間の融合もしくは連結反応は、例えば通常の共有結合もしくはイオン結合、蛋白質融合、あるいはカルボジイミドおよびグルタルアルデヒドなどを例とするヘテロ二官能性架橋剤によるいずれかの適切な手段の方法によるものであることができる。第一融合パートナーをエフェクター剤と結合させる場合には、非蛋白質性の通常の化学結合剤を使用して抗-P、ファルキパルムのアミノ酸配列をエフェクター剤へと融合もし

くは連結させることができる。このような技術は当業者に知られており、そして通常の化学および生化学の教科書において平易に記載されている。

その上、融合パートナー間もしくは第一融合パートナーとエフェクター剤との間の所望の量の間隙を単純に提供するのみの通常の不活性リンカー配列をこの融合分子内に作製することもできる。このようなリンカーの設計は当業者によく知られている。

このような融合分子の発現により本発明の融合蛋白質がもたらされる。

特に所望される種類の融合蛋白質には、最低でも受容体mAbの可変重鎖および／または軽鎖ドメインの断片が、NFS2のような本明細書において記載されるプラスモディウムmAbを初めとする一つもしくは複数の供与体モノクローナル抗体からの可変軽鎖および／または重鎖の類似部分により置換されている工学的処理の施された抗体がある。

特に所望される工学的処理の施された抗体の一つの例はヒューマナイズド抗体であり、この場合所望の供与体であるマウスmAbからのCDRがヒト抗体のフレームワーク領域内に挿入されている。好ましい供与体抗体はプラスモディウムエピトープに対する抗体であり、P. ファルキパルムの反復領域エピトープについて特異的な抗体であることが好ましい。特に好ましい供与体抗体は、NFS2の可変ドメインアミノ酸配列の全てもしくは一部分を有する。これらのヒューマナイズド抗体においては、プラスモディウム抗体の重鎖および／または軽鎖可変領域からの一つ、二つ、もしくは好ましくは三つのCDRが選択されたヒト抗体のフレームワーク領域内に挿入されており、その後者の抗体の固有なCDRを置換している。

ヒト重鎖および軽鎖の両方における可変ドメインがCDR置換により変えられていることが好ましい。従って、この工学的処理の施されたヒューマナイズド抗体は天然のヒト抗体もしくはその断片の構造を有することが好ましい。このようなヒューマナイズド抗体は、供与体mAbの結合特異性を保持させる目的で、受容体mAbの軽鎖および／または重鎖可変ドメインフレームワーク領域の最低限の改変を含むことも、あるいは含まないこともある。ヒューマナイズド抗体は、

動物もしくはヒトに

おける感染性P. フアルキパルム疾患の有効な予防および治療に必要な特徴を兼ね合わせて保持する。

残りの工学的処理の施された抗体は適切な受容体ヒト免疫グロブリンのいずれかのものから取得することができる。適切なヒト抗体は、供与体抗体のヌクレオチドおよびアミノ酸配列への相同性により、カバト (K a b a t) データベース、ロスアラモス (L o s A l a m o s) データベース、スイスプロテイン (S w i s s P r o t e i n) データベースを例とする通常のデータベースから選択されるものであることができる。供与体抗体のフレームワーク領域への相同性 (アミノ酸レベルでのもの) を特徴とするヒト抗体は、供与体CDRの挿入のための重鎖不変領域および/または重鎖可変フレームワーク領域を提供するのに適する可能性がある。軽鎖の不変領域もしくは可変フレームワーク領域を供与することが可能な適切な受容体抗体を類似の様式において選択することができる。受容体抗体の重鎖および軽鎖は必ずしも同一のヒト抗体を起源とする必要はないことを銘記すべきである。

異種のフレームワークおよび不変領域は、I g G (サブタイプ1から4まで)、I g M、I g A、およびI g Eのようなヒト免疫グロブリンのクラスおよびイソタイプから選択される。しかしながら、受容体抗体はヒト免疫グロブリン蛋白質配列のみを含む必要はない。例えば、ヒトの免疫グロブリン鎖の一部をコード化するDNA配列を、ポリペプチドエフェクターもしくはレポーター分子のアミノ酸配列をコード化するDNA配列に融合させた遺伝子を作製することができる。

一例として工学的処理の施された抗体は、受容体m A bの軽鎖可変領域をコード化する核酸配列の少なくとも一部分の代わりのN F S 2の可

変軽鎖領域のCDRをコード化する合成核酸配列もしくはその機能的断片、ならびにヒト抗体のような受容体m A bの重鎖可変領域をコード化する核酸配列の少なくとも一部分の代わりのN F S 2の可変重鎖領域のCDRをコード化する核酸

配列もしくはその機能的断片によりコード化されることがある。得られるヒューマナイズド抗体は、mAb NFS 2 の抗原結合特異性を特徴とする。

別法では、本発明の工学的処理の施された抗体（もしくは他のモノクローナル抗体）をエフェクターもしくはレポーター分子に結合させることができる。別法では、組換えDNA技術の方法を使用して完全な抗体分子のF<sub>c</sub>断片もしくはCH<sub>3</sub>ドメインが酵素もしくは毒素分子に置換されている本発明の工学的処理の施された抗体を産生することができる。

このような工学的処理の施された抗体が供与体抗体の特異性に必ずしも影響を及ぼすことなく可変ドメインのアミノ酸の変化により更に修正を加えることができるということは当業者に理解されるであろう。重鎖および軽鎖のアミノ酸を、可変ドメインフレームワークもしくはCDR、あるいはその両方のいずれかにおいて他のアミノ酸により置換することができるということが予想される。このような工学的処理の施された抗体は、ヒトにおける増殖性マラリア（例えば、P. ファルキパルムによる）感染の予防に効果的である可能性がある。

その上本発明は、先に定義されるようなキメラ抗体である融合蛋白質を提供する。このような抗体は、両方の鎖について受容体の不変領域に融合させてある図1〔配列番号3および4〕ならびに図4〔配列番号9および10〕を一例とするフレームワーク領域を初めとする供与体抗体の完全な重鎖および軽鎖を提供することにより、先に記載のヒューマナ

イズド抗体とは異なっている。

#### V. 蛋白質および抗体の産生

本発明の融合分子、組換え抗体、もしくは融合蛋白質は、遺伝子工学技術を使用する組換えDNA技術により作製することが望ましい。同一のもしくは類似する技術を利用して、先に記載したように、キメラ抗体もしくはヒューマナイズド抗体、合成軽鎖および重鎖、CDR、ならびにそれらをコード化する核酸配列を作製することを例とする、本発明の他の態様を作製することもできる。

マウスNFS 2のCDR、および一つもしくは複数の選択されたヒト抗体軽鎖および重鎖フレームワーク領域を使用する本発明の組成物の具体的態様を以下の

実施例3に示す。簡便に記述すると、マウス抗体NFS2を産生するハイブリドーマを常法によりクローン化し、そしてその重鎖および軽鎖の可変領域のcDNAをSambrook et al.、Molecular Cloning (A Laboratory Manual)、2nd edition、Cold Spring Harbor Laboratory (1989)により記載される技術を例とする当業者に知られる技術により取得する。このNFS2の可変領域をPCRプライマーを使用して取得し、そしてCDRを、他の抗体への比較についての、カバト (Kabat) を例とする既知のコンピューターデータベースを使用して同定する。

ヒト抗体からの重鎖可変領域の同種フレームワーク領域はカバト (Kabat) を例とする同一のコンピューターデータベースを使用して同定し、そして受容体抗体としてはNFS2への相同性を有するヒト抗体を選択した。ヒト抗体のフレームワーク内にNFS2のCDRを含む合

成重鎖可変領域の配列は、制限部位のためのフレームワーク領域内における随意的 (optional) スクレオチド置換を用いて設計した。この設計配列はオリゴヌクレオチドを重複させることにより合成し、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) により増幅し、そして間違いの訂正を行った。

適切な軽鎖可変フレームワーク領域を類似様式において設計し、それによりNFS2のCDRを含む2つの合成軽鎖可変配列がもたらされた。図2 [配列番号5および6]、ならびに図3 [配列番号7および8] を参照せよ。先に記載のように、軽鎖の源は本発明を制限する要因ではない。

以下に示す方法により、本発明の融合蛋白質および工学的処理の施された抗体、好ましくはヒューマナイズド抗体の作製において、これらの合成可変軽鎖および/または重鎖配列、ならびにmAb NFS2のCDR、ならびにそれらをコード化する核酸配列を利用する。通常技術により、供与体抗体の可変重鎖および軽鎖領域をコード化するDNA配列が得られるが、このDNA配列においては供与体mAbの結合特異性を保持させる目的で少なくともCDRならびに受容体mAbの軽鎖および/または重鎖可変ドメインフレームワーク領域内の最低部分

が必要とされ、同時に抗体鎖の残りの免疫グロブリン由来部分をヒト免疫グロブリンから取得する。

通常の発現ベクターもしくは組換えプラスミドは、融合蛋白質をコード化するこれらの配列を、宿主細胞内での複製および発現ならびに／あるいはその宿主細胞からの分泌を調節することが可能な通常の調節制御配列と操作的結合させることにより作製した。当業者はこのような調節

配列を簡便に選択することができ、そしてこのような調節配列は本発明の制限として意図されるものではない。調節配列には、CMVプロモーターを例とするプロモーター配列、および当業者が抗体から取得することができるシグナル配列がある。

第一ベクターは軽鎖由来のポリペプチドをコード化する配列を含むことができる。相補的处理の施された抗体の軽鎖もしくは重鎖をコード化する類似のDNA配列を有する第二発現ベクターを同様に作製する。少なくとも可変ドメインのCDR（ならびに、供与体mAbの結合特異性を保持させる目的で必要とされる受容体mAbの軽鎖および／または重鎖可変ドメインフレームワーク領域の内の最低部分）を供与体抗体から取得し、そしてこの抗体鎖の残りの免疫グロブリン由来部分がこれらのベクター中ではヒト免疫グロブリンから得られることが好ましい。この第二発現ベクターは、コーディング配列ならびに各ポリペプチド鎖が機能的に発現されていることを確認するための選択可能標識を除いては第一発現ベクターに相同であることが好ましい。

他の別法においては本発明の単一ベクターを利用することができるが、そのベクターには軽鎖および重鎖由来のポリペプチドの両方をコード化する配列が含まれている。軽鎖および重鎖についてのコーディング配列中のDNAは、cDNAもしくはゲノムDNA、あるいはその両方を含むことができる。

選択された宿主細胞を第一および第二ベクターの両方（もしくは単一ベクター）を用いて通常の技術により同時にトランスフェクションさせることにより、組換えもしくは合成の軽鎖および重鎖の両方を含む本発明のトランスフェクション済み宿主細胞を作製する。その後このトラン

スフェクション済み細胞を通常の技術により培養して本発明の工学的処理の施された抗体を産生させる。組換え重鎖および／または軽鎖の両方の結合物を含むヒューマナイズド抗体を、以下に示される実施例に記載されるELISAアッセイおよびその後続く分裂体侵入阻害（the Inhibition of Sporozoite Invasion (ISI)）アッセイのような適切なアッセイにより培養物からスクリーニングする。類似する通常の技術を利用して本発明の他の融合蛋白質を作製することができる。

従って本発明は、本発明の融合分子もしくは工学的処理の施された抗体のコーディング配列を含む組換えプラスミドを含む。このようなベクターを通常の技術により作製し、そしてこのようなベクターは前述のDNA配列、および工学的処理の施された抗体をもコード化するそのDNA配列に操作的に連結されている適切なプロモーターを適切な様式において含む。このようなベクターを、通常の技術を介して哺乳類細胞内にトランスフェクトさせる。

当業者は、本発明の組成物の作製法において利用されるクローニングおよびサブクローニング段階に適するベクターを選択することができる。例えば、通常のpUCシリーズのクローニングベクターを使用することができる。用いられる一つのベクターはpUC19であり、これはAmersham社（Buckinghamshire、英国）およびPharmacia社（Uppsala、スウェーデン）のような供給元から市販品として入手する。その上、容易に複製することが可能で、豊富なクローニング部位および標識遺伝子を有しており、そして操作が容易いいずれかのベクターをクローニングのために使用することができる。

従ってクローニングベクターの選択は、本発明を制限する要因にはならない。

同様に、当業者は、本発明に従う工学的処理の施された抗体の発現に利用されるベクターをいずれかの通常のベクターから選択することができる。これらのベクターは免疫グロブリン領域のDNAコーディング配列と操作的に連結させてあり、そして選択された宿主細胞内での異種DNA配列の複製および発現を指令することが可能な選択された調節配列をも含むが、その調節配列とはCMVプロモ-



ターのような配列である。これらのベクターは工学的処理の施された抗体もしくは他の融合蛋白質をコードする先に記載のDNA配列を含む。別法では、ベクターは操作の簡便化のために所望される制限部位の挿入により修正される選択された免疫グロブリン配列を取り込むことができる。

発現ベクターもやはり、哺乳類のジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子 (DHFR) もしくはネオマイシン耐性遺伝子 (neo<sup>R</sup>) を例とする異種DNA配列の発現を増幅させるのに適する標識遺伝子を特徴とすることができる。他の好ましいベクター配列には、ウシの成長ホルモン (BGH) のようなものからのポリAシグナル配列、およびベクターグロブリンプロモーター配列 (beta glupro) を含む。本明細書における有用な発現ベクターは、当業者によく知られている技術により合成することができる。

レプリコン、選択遺伝子、エンハンサー、およびプロモーターなどを例とするこのようなベクターの構成成分は、天然の源から取得することができるか、あるいは選択された宿主内の組換えDNAの発現を指令するという用途についての既知の方法により合成することができる。当該

技術分野において知られている哺乳類、細菌、昆虫、イースト、および真菌類発現のための多大な数にのぼる種類の他の適切な発現ベクターをこの目的のために選択することもできる。

合成重鎖および軽鎖配列の発現のために以下に示す実施例において利用される発現ベクターの2つの例は、哺乳類ベクターである Pf h z h c 2 - 3 - P c d および Pf h z l c 1 - 1 - P c n である (図7および8を参照せよ)。しかしながら、本発明は、実例として挙げたこれらの pUC19-基盤型ベクター (pUC19-based vector) の利用に限定される訳ではない。

本発明はまた、本発明により記載される工学的処理の施された抗体もしくは他の融合蛋白質のコーディング配列を含む組換えプラスミドでトランスフェクトさせた細胞株をも含む。これらのクローニングベクターのクローニングおよび他の操作に有用な宿主細胞もやはり通常のものである。しかしながら大腸菌 (E. coli) の種々の株からの細胞を、クローニングベクターの複製および本発明の

mAbの作製における他の段階のために使用することが最も強く所望される。

本発明の工学的処理の施された抗体もしくは他の蛋白質の発現に適する宿主細胞もしくは細胞株は真核生物細胞であることが好ましく、CHO細胞もしくは骨髓細胞のような哺乳類細胞であることが最も好ましい。他の霊長類細胞を宿主細胞として使用することができ、そしてヒト細胞を使用することが最も好ましく、このことにより蛋白質をヒトのグリコシルパターンで修正することが可能となる。別法では、他の真核生物細胞株を利用することができる。適切な哺乳類宿主細胞の選択法、ならびに形質転換、培養、増幅、スクリーニング、および産物の産生、および

精製の選択法が当該技術分野において知られている。例えば、先に引用される Sambrook et al.、を参照せよ。

細菌細胞が本発明の組換えmAbの発現に適する宿主細胞として有用であると判明する可能性がある。しかしながら細菌細胞中に発現される蛋白質は折り畳まれていない形態もしくは不適切に折り畳まれた形態になるか、あるいは非グリコシル化形態になる傾向があるため、細菌細胞中で産生されるいずれの組換えmAbも抗原結合能の保持についてスクリーニングする必要があるであろう。細菌細胞により発現される蛋白質が適切に折り畳まれた形態で産生される場合には、この細菌細胞は所望の宿主となるであろう。例えば発現のために用いられる様々な株の大腸菌が、生物工学の分野における宿主細胞としてよく知られている。B. subtilis、ストレプトミセス (Streptomyces)、および他のバチルス属細菌などもこの方法において利用することができる。

所望される場合には当業者に知られるイーストの株も宿主細胞として利用することができ、昆虫細胞およびウイルス性発現系もまた同様である。例えば、Miller et al.、Genetic Engineering、8:277-298、Plenum Press (1986)、およびそこに引用される引用文献を参照せよ。

本発明のベクターを作製することができる一般的な方法、本発明の宿主細胞を

産生するのに必要なトランスフェクション法、ならびにそのような宿主細胞からの本発明の融合蛋白質および好ましくは工学的処理の施された抗体の産生に必要な培養法は、すべて通常の技術である。同様に、いったん産生させた後には、本発明の融合蛋白質、好ましくは工学的処

理の施された抗体を、当該技術分野の標準的な方法に従ってその細胞培養物含有物から精製することができ、それらの方法には硫酸アンモニウム沈殿、親和性カラム、カラムクロマトグラフィー、およびゲル電気泳動などがある。このような技術は当該技術分野の技術範囲に含まれるものであり、そして本発明を制限するものではない。

その後工学的処理の施された抗体を、選択された病原体に適するアッセイの利用によりインビトロ活性について調査する。目下のところ通常のELISAアッセイを利用してR32tet32エピトープ〔配列番号2〕への工学的処理の施された抗体の定性的および定量的結合を評定している。実施例6に記載されるISIアッセイも利用することができる。類似するアッセイである肝細胞侵入阻害アッセイ（ILSDA）も実施することができる〔S. Mellouk et al.、Bull. WHO、Suppl. 68:52-58（1990）〕。その上更に、SCIDマウスモデルにおいて最近開発されたアッセイを利用して先に効力を検証しておき、そしてその後ヒトの臨床研究を実施すれば、体内における工学的処理の施された抗体の持続性を通常のクリアランス機構の存在にもかかわらず評定することができる。

以下に記載される実施例により、マウスmAb NFS2から取得されるヒューマナイズド抗体の作製のための方法が示される。この抗体から製造されるヒューマナイズド抗体について記載される方法に従って、当業者は、本明細書中に記載される他のマラリア抗体、可変領域配列およびCDRペプチドからのヒューマナイズド抗体を作製することもできる。変更を加えた抗体である受容体により「自己」として認識される可能性のある可変領域のフレームワークを用いて工学的処理の施された抗

体を産生することができる。可変領域フレームワークをわずかに修正することにより、受容体についての免疫原性をさほど増加させずに抗原結合をかなり増加させるということが可能となる。このような工学的処理の施された抗体は、P. ファルキパルム感染に対してヒトを受動的な様式で有効に保護することができる。

。

#### V I. 治療的／予防的利用

本明細書に記載される融合蛋白質、具体的には先に記載される工学的処理の施された抗体、機能的断片、アナログ、および他の蛋白質もしくはペプチドを、P. ファルキパルムを例とするもとの抗原物質の取得元である病原体による感染への短期的受動免疫を被検体に付与することが可能な予防剤として利用することができる。本発明の工学的処理の施された抗体の利用により付与される予防効果は、その病原体への免疫グロブリンの結合、およびその後生じるマクロファージの正常機能によるこの結合複合体の除去により与えられる。従って本発明の工学的処理の施された抗体は、予防的利用に適する調剤および製剤である際には、風土病の存在する地域を旅することが予期される旅行者、観光客、もしくは軍人を例とする病原体への短期露出が予期される人に非常に強く所望される。

従って本発明はヒトのP. ファルキパルム感染の予防的治療を必要とするヒトにおけるその感染の予防的治療の方法にも関し、この方法は、ある種のプラスモディウムにさらされたことが予期されるヒトに、一つもしくは複数の本明細書に記載される工学的処理の施された抗体もしくは他の融合蛋白質あるいはそれらの断片を含む抗体の有効予防用量を投与することを含む。

本発明の工学的処理の施された抗体もしくはその断片を初めとする融合蛋白質は、他の抗体、具体的には本発明の工学的処理の施された抗体の標的である疾患の原因となる他のエピトープに反応性を示すヒトmAbと連結させて使用することもできる。同様に、本発明の抗体の標的であり、選択された動物における疾患の原因となる他のエピトープに反応性を示すmAbを獣医学的組成物中に利用することもできる。本発明のプラスモディウム抗体を妨害することなく操作することが可能ないずれかの抗体は、これらの組成物に役立ち、それらの例は、他のマ

ラリア段階もしくは異なるエピトープへの抗体である。

本発明の予防剤は、約4日から約8週間までの間の病原体への露出に対する予防を、この薬剤のブースター投与を必要とすることなしに付与することが所望されるものと思われる。「短期的」というこの定義は、ヒト循環系内の本発明の組換え抗体の相対的持続期間を意味する。

本発明の予防剤の投与の様式は、その薬剤を宿主に輸送するいずれかの適切な経路であることができる。本発明の、工学的処理の施された抗体を初めとする融合蛋白質、およびその断片、ならびに薬剤学的組成物は、非経口投与、つまり皮下投与、筋肉内投与、もしくは静脈内投与にとって特に有用である。しかしながら、この薬剤を筋肉内注射により投与することが好ましい。

本発明の予防剤は、非毒性でありそして滅菌されている薬剤学的に許容される担体内の活性成分として本発明の工学的処理の施された抗体の有効量を含む薬剤学的組成物として調製することができる。本発明の予防剤においては、すぐに注射することができる形態をとる工学的処理の施された抗体、好ましくは生理学的pHに緩衝化されているものを含む

水性懸濁液もしくは水溶液が好ましい。非経口投与のための組成物は、一般的には本発明の工学的処理の施された抗体の溶液、もしくは許容される担体、好ましくは水性担体内に溶解させたそのカクテルを含むであろう。食塩水およびグリシンなどの種々の水性担体を利用することができる。これらの溶液は滅菌されており、そして一般的には粒子性物質を含まない。これらの溶液は通常よく知られた滅菌技術により滅菌することができる。これらの組成物は、pH調整剤および緩衝剤などのような、生理学的条件を模倣するのに必要な薬剤学的に許容される補助物質を含むことができる。このような薬剤学的製剤中の本発明の抗体の濃度は広範囲に変化することができ、すなわち、重量にして約0.5%を下回る濃度、通常では約1%もしくは少なくとも約1%という濃度から、せいぜい15もしくは20%までという濃度であり、そして選択される具体的な投与様式に従い、主に液体用量、粘稠度などに基づいて選択されるであろう。

従って、筋肉内注射を例とする非経口投与のための本発明の薬剤学的組成物を

、1 mLの滅菌緩衝化水、および約50 mgから約100 mgまでの間の本発明の工学的処理の施された抗体を含むように調製することができる。同様に、静脈内注入のための本発明の薬剤学的組成物を、250 mLの滅菌リンゲル溶液、および150 mgの本発明の工学的処理の施された抗体を含むように作製することができる。非経口的投与可能な組成物の調製のための実際の方法は当業者によく知られているか、あるいは当業者に明らかになるであろうし、そしてこれらの方法は、例えば、Remington's Pharmaceutical Science、15th ed.、Mack Publishing C

ompany、Easton、Pennsylvania、においてより詳細に記載されている。

本発明の予防剤は、薬剤学的調剤である際には、単位用量形態となって存在することが好ましい。当業者は、適切な治療学的有効用量を簡単に決定することができる。ヒトもしくは他の動物におけるP. ファルキパルム感染を有効に予防するためには、約1 kg/mkから約20 mg/kgの本発明の蛋白質もしくは抗体の単回用量を非経口投与、好ましくは筋肉内投与（i. m.）およびおそらくは静脈内投与（i. v.）により投与するべきである。このような投与を暴露期間中に適切な間隔を明けて繰り返すことができる。

本明細書中に記載される抗体、工学的処理の施された抗体、もしくはその断片は、保管のために凍結乾燥することができ、そして使用前に適切な担体中で再構成させることができる。この技術は通常の免疫グロブリンに関して有効であることが既に示されており、そして当該技術分野で知られている凍結乾燥および再構成技術を利用することができる。

薬剤学的組成物の単回もしくは複数回投与は、診療にあたる医師により選択される用量レベルおよび投与様式を用いて実施することができる。どのような状況においても、本発明の薬剤学的組成物は感染を有効に予防するのに十分な量の本発明の工学的処理の施された抗体を提供するはずである。

以下に示される実施例は、実例として示した工学的処理の施された抗体の作製法ならびに適切なベクターおよび宿主細胞内でのそれらの発現を詳細に説明する

が、これらの実施例は本発明の範囲の制限として解釈すべきものではない。他に指示がない限り、全てのアミノ酸は通常の記

号もしくは正式名称で記載されている。他に指示がない限り、全ての制限酵素、プラスミド、ならびに他の試薬および物質は市販の源から取得した。全ての一般的クローニング、連結反応、および他の組換えDNA法は、既に引用されている Sambrook et al.、もしくはその第1版において記載されるように実施した。

#### 実施例1－NFS2の産生の記述

マウスのIgG mAb NFS2は、マウス内へのP. ファルキパルム分裂体の反復注射、およびその後のミエローマ細胞株とのB細胞融合により作製した。このマウスmAb NFS2は、P. ファルキパルムCS蛋白質の反復領域への抗原結合特異性を特徴とする。具体的には、NFS2 mAbはエピトープ Pro Asn Ala Asn Pro Asn (配列番号27) に結合する。この抗体は、その反復領域上のより大きなエピトープもしくは重複エピトープにも結合することが可能である。

このマウスmAbは、インビトロアッセイにおいてヒトの肝細胞および肝癌細胞中への分裂体の侵入を予防した。マウスモデルにおいては類似抗体によりマラリアに対する受動予防が付与され、そしてこれらの抗体はかなり効力が高いことが観察されている [例えば、引用することにより本明細書に取り込まれる R. A. Wirtz et al.、Bull WHO、65:39-45 (1987)、を参照せよ]。この抗体は、米国海軍医療研究所 (the U. S. Naval Medical Research Institute) から入手することができる。

#### 実施例2－NFS2のクローニングおよび配列決定

細胞質RNAはNFS2およびハイブリドーマ細胞株から Favaloro et al.、Meth. Enzymol.、65:718-749 (1980) の方法により調製した。以下に示すプライマーを各々Ig重鎖 (V<sub>H</sub>) および

軽鎖 ( $V_L$ ) 可変領域 cDNA の合成に用いた。  $V_L$  プライマーである #2580 および #2789 は HindIII から XbaI までにわたるものであり、そしてこれをマウス RNA の不変領域のために作製した。

HindIII

#2580: 5'CCAGATGTAAGCTTCAGCTGACCCAGTCTCCA3'  
PvuII

配列番号 28

XbaI NaeI

#2789:

5'CATCTAGATGGCGCCGCCACAGTACGTTTGATCTCCAGCTTGGTCCC3'

配列番号 29

$V_H$  プライマーである #2621 および #2853 は KpnI から PstI までにわたるものであり、そしてこれをマウス RNA の不変領域のために作製した。

KpnI

XhoI

#2621: 5'GGGGTACCAGGTCCA(A/G)CT(G/T)CTCGAGTC(A/T)GG3'

配列番号 30

PstI

#2853: 5'GCCTGCAGCTAGCTGAGGAGACGGTGACCGTGGTCCCTTGG-  
NheI

CCCCAG3'

配列番号 31

Saiki et al., Science, 239:481-491 (1988) により記載される PCR はこの RNA 鋳型上で実施した。

PCR については用いたプライマーを先に示した。  $V_H$  の PCR 増幅については、DNA/プライマー混合物は、5  $\mu$ l の RNA および 0.5  $\mu$ M のプライマーという組成であった。  $V_L$  の PCR 増幅については DNA/プライマー混合物は、5  $\mu$ l の RNA および 0.5  $\mu$ M のプライマーという組成であった。これらの混合物に、250  $\mu$ M の各 dATP、dCTP、dGTP、および dTTP、10 mM のトリス-HCl pH 8.3、50 mM の KCl、1.5 mM の MgCl<sub>2</sub>、0.01% (w/v) のゼラチン、0.01% (v/v) の Tween 20、0.01% (v/v) の Nonidet P40、および 5 単位の Amp



l i T a q [ C e t u s 社] を添加した。各試料を、94℃下30秒、55℃下30秒、72℃下45秒のPCRからなる熱サイクルに25回、ならびに72℃下5分の最終サイクルに供した。クローニングおよび配列決定については、増幅させたV<sub>H</sub> DNAを低融点アガロースゲル上での精製およびE l u t i p e d カラムクロマトグラフィー [ S c h l e i c h e r a n d S c h u e l l e r D u s s e l 社、ドイツ] による精製に供し、そしてpUC18 [ N e w E n g l a n d B i o l a b s 社] 内にクローン化させた。一般的なクローニングおよび連結反応法は、先に引用されているM a n i a t i s e t a l. に記載されるものであった。

V<sub>H</sub> DNAは、K p n I - P s t I 断片として同一酵素で消化させたpUC18内にクローン化した。V<sub>L</sub> DNAは、H i n d I I I - X b a I 断片として同一酵素で消化させたpUC18内にクローン化した。代表的なクローンについて、ジデオキシ法 [ S a n g e r e t a l. , P r o c. N a t l. A c a d. S c i. U S A, 74:54

63-5467 (1977) ] により、T7 DNAポリメラーゼ [ U S B i o l o g i c a l s 社] を用いて配列決定を行った。NFS2のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>ドメインの配列から、他のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>配列でのコンピューター算出アラインメントを利用して、「S e q u e n c e s o f p r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t (免疫学的に重要な蛋白質の配列)」、U S D e p t o f H e a l t h a n d H u m a n S e r v i c e s 、U S G o v e r n m e n t P r i n t i n g O f f i c e (1987) におけるK o b a t e t a l. の方法に従ってCDR配列を誘導した。NFS2の重鎖および軽鎖のCDRは先に列挙してあり、そして配列番号15-20および31-26として本明細書中に示した。

#### 実施例3ーヒューマナイズド抗体

以下に示す実施例は、実例として示した工学的処理の施された抗体の製造法を記載する。工学的処理の施された抗体の開発についての類似方法を、常法により開発される他のプラスモディウム抗体もしくは他の抗一病原体抗体を用いて追行

することができる。

これらの工学的処理の施された抗体を調製するために利用される供与体CDRの源は先の実施例1および2において記載されるマウスmAb、NFS2であった。配列決定を行ったNFS2可変フレームワーク領域を利用して再度カバットデータベースを介する調査を行い、ヒト抗体の相同フレームワーク領域を同定した。ヒトSLE患者のB細胞ハイブリドーマ細胞株18/17 [H. DerSimonian et al., *J. Immunol.*, 139:2496-2501 (1987)] から取得した抗体のフレームワーク領域がNFS2可変重鎖フレーム

ワーク領域に約80%相同であること決定した。

マウスNFS2のCDR（実施例2）およびヒト抗体18/17の配列を取得したことにより合成重鎖可変領域を作製し、そしてDNA合成およびDNA増幅のためにPCRを実施した。NFS2のCDR配列および18/17のVHフレームワーク領域を、以下に示す重複オリゴヌクレオチドにより合成し、それらは、

配列番号 44 : TAGTGAAGAATTGAGGACGCCAGCAACATGGTGTTCAGAC  
CCAGGTCTTCATTTCTCTGTTGCTCTGGATCTCTGCTGCCTACGGGGAGGTGCAG  
(塩基 1 - 97)、

配列番号 45 :  
GCTAGCGGATTCACCTTTAGCAGCCATGTCGGACCCCCCAGG  
GACTCTGAGAGGACACGTCGATCGCCTAAGTGGAATCCTATGCCATGAGCTGGG  
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGTCTAGAGTGGGTCTCAGAAATCTTTATAGTGAT  
GGTGGTAGTTAC  
(塩基 158 - 259)、

配列番号 46 :  
GAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG  
GACACGTCTCTGTTAAGGTTCTTGTGCGACATAGACGTTTACTGCAGTATATTAC  
TGTGCGAAACTCATCTACTATGGTTACGACGGGTATGCTATGGACTAGCTGCCCCA  
TACGATACCTGATC  
(塩基 316 - 421)、

配列番号 47 : TTCTTGAAAGCTTGGGCCCTTGGTACTAGCTGAGCTCACGG  
TGACCAGGGTACCCTGGCCCCAGTAGTCCATAGCATACCCGTCG  
(塩基 484 - 400)、

配列番号 48 :  
CATTTGCAGATACAGCGTGTCTTGGAATTGTCTCTGGATA  
TCGTGAACCGGCCCCGTCACAGTGTCTGGATAGTAGGTGTAACCTACCACCATCACT  
AATTTC  
(塩基 337 - 236)、

配列番号 49 : CTAAAGGTGAATCCGCTAGCTGCACAGGAGACTCTCAGGGA  
CCCCCAGGCTGTACCAAGCCTCCCCAGACTCGAGCAGCTGCACCTCCCCGTAG  
GCACC

(塩基 177 - 77)、であつた。

これらのプライマーを同時にアニールし、そしてTaqポリメラーゼを使用し  
てDNA合成を行い、次にはPCR増幅を行うが、この際以下に示す5' プライ  
マー：

配列番号 50 : CCGCGAATTCGAGGACGCCAGCAAC 、  
および3' プライマー：配列番号 51 :

CCGCAAGCTTGGGCCCTTGGTACTAGCT.

を使用した。

PCRにより挿入されたマップ配列中のエラーを訂正した。その上、保存的ヌクレオチド置換をフレームワーク領域内に入れることで酵素開裂に適する選択された制限部位を導入した。フレームワーク領域内でのこれらの改変は、図2〔配列番号5および6〕、図3〔配列番号7および8〕、図5〔配列番号11および12〕、および図6〔配列番号13および14〕の配列において四角で囲うことにより示した。その上、ほとんどのマウスおよびヒト抗体はCDR3の前に塩基性残基を有している。NFS2の可変重鎖は非塩基性残基のSerをCDRの3前に有するため〔配列番号19-20、および25、および26〕、受容体のCDR3前の塩基性残基(Lys)を削除し、そしてSerに入れ替えて重鎖Pf h z h c 2-3を作製した。

2つの合成重鎖可変領域、すなわちPf h z h c 2-3〔配列番号13および14〕ならびにPf h z h c 2-4〔配列番号11および12〕を取得した。これらの配列の詳細を図5および6に記載する。これらの

合成重鎖可変領域の各々は、一つもしくは二つのヌクレオチドあるいはアミノ酸の違いを特徴とする。例えば、Pf h z h c 2-3〔配列番号13および14〕は位置98にSerを有し、そしてPf h z h c 2-4〔配列番号11および12〕は位置98にLysを有する。そうでなければこれらの重鎖可変領域は相同である。

適切な軽鎖可変フレームワーク領域については、H. G. K l o b e c k e t a l .、Nucl. Acads Res.、13: 6515-6529 (1985)において同定されているヒト抗体のNFS2軽鎖CDRおよび軽鎖可変フレームワーク配列を使用して、同一方法により適切な合成軽鎖配列を作製した。使用したオリゴヌクレオチドを以下に示す。

それらは、

配列番号 5 2 : TAAGCGGAATTCGTAAGTCGGATATCGTGATGA~~CC~~CAGTC  
TCCAGACTCGCTAGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGC (塩基 1 - 75) 、

配列番号 5 3 : TTACTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCGGGCAGTCTCC  
TAAGTTGCTCATAGTTTTCTTAATGAACCGCACTTACTGGGCGTCAACTAG  
(塩基 130 - 198) 、

配列番号 5 4 : GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAA  
GATGTGGCAGTATACTACTGCTGTCTAAAGTGTGAGCAATATTATAGCTATCC  
(塩基 241 - 321) 、

配列番号 5 5 : CAGTTGGAAAGCTTGGCGCCGCCACAGTACGTTTGATCTCCA  
CCTTGGTCCCTCCGCCGAACGTCCGCGGATAGCTATAATATTGC  
(塩基 389 - 304) 、

配列番号 5 6 : GTGAAATCTGTCCCAGACCCGCTGCCACTGAATCGG  
TCAGGTACCCAGATTCCCTAGTTGACGCC (塩基 252 - 187) 、

配列番号 5 7 : CAGGCCAAGTAATTCTTTTGATTGCTCGAGTATAAA  
AGGCTCTGAGAGCTCTTGCAAGTTGATGGTGGCCCTCTCGCCC  
(塩基 141 - 64) 、

である。

先に記載のようにプライマーを同時にアニールさせ、そしてTaqポリメラーゼを使用してDNA合成を行い、次にPCR増幅を行うが、この際以下に示す5'プライマー：配列番号58：GCGGAATTCGTAAGTCGGATATCGTGATGAC、および3'プライマー：配列番号59：TGGAAAGCTTGGCGCCGCCACAGTACGTTTGATCを用いた。

NFS2のCDRを含む2つの合成軽鎖可変配列を設計し、そして合成重鎖について先に記載したように合成し、そしてこれらをPfhlcl-1 [配列番号5および6] およびPfhlcl-2 [配列番号7および8] と命名した。これら2つの配列は、唯一のアミノ酸位置49のアミノ酸配列が異なるに過ぎない。Pfhlcl-1 [配列番号5および6] は位置49にSerを有し、一

方でP f h z l c 1-2 [配列番号7および8] は同じ位置にP r oを有する。

これらの合成可変軽鎖および／または重鎖配列を、実例として示すヒューマナイズド抗体の作製に利用する。いずれの合成重鎖もいずれの合成軽鎖とうまく結合して有用なヒューマナイズド抗体を産生するであろうことが期待される。

ヒューマナイズド抗体を産生するために、重鎖可変配列P f h z h c

2-3 [配列番号13および14] (図6) については、配列番号61 : Met  
ValLeuGlnThrGlnValPheIleSerLeuLeuLeu

以下に示すシグナル配列 : 配列番号60 : ATGGTGTTCAG

ACCCAGGTCTTCATTTCTCTGTTGCTCTGGATCTCTGGTGCCTAC,  
をこの可変領域上に合成した。合成軽鎖可変配列P f h z l c 1-1 [配列番号5および6] (図2) については、E c o R IおよびE c o R Vでこの構築物を消化し、そして同一のシグナル配列をこの可変配列に連結させた。他のシグナル配列は当業者によく知られており、そしてこれを実例として示したこの配列の代わりに置き換えることができる。

重鎖および軽鎖について選択されたヒトI g G<sub>1</sub>抗体の選択された不変領域を合成し、そしてPCRにより検証した。その後、これらの不変領域配列をpUC19基盤型発現ベクター中に挿入した。その後、シグナルならびに軽鎖および重鎖の可変領域を含む先に記載の合成可変構築物をCMVプロモーターおよびその不変領域を含むこれらのpUC19基盤型発現ベクター内に挿入し、そしてあらかじめ挿入してあったヒトの重鎖および軽鎖不変領域に常法により [M a n i a t i s e t a l.、先に引用されている] 読み枠同士を合わせて融合させた。従って合成可変領域をこれらの発現ベクター内へ挿入した後に、図7および8に示されるプラスミドが取得された。その後これらのプラスミドを選択された宿主細胞内に同時にトランスフェクトさせ、次にインキュベーションし、その培地を以下の実施例4に記載されるELISAを介して抗体活性についてアッセイした。

類似の技術を使用して実例として示す他のヒューマナイズド抗体を、

合成重鎖配列 P f h z h c 2-3 [配列番号 13 および 14] (図 6) ならびに合成軽鎖配列 P f h z l c 1-2 [配列番号 7 および 8] を使用して作製する。

#### 実施例 4-高親和性ヒューマナイズド抗体

実施例 1 および 2 に記載のもともとのマウス抗体 N S F 2 の可変領域のフレームワークと、P f h z h c 2. 3 とのアミノ酸の差異を決定し、そして幾つかの変更を施して、もともとの抗体の立体配座の保存レベルを上昇させた。

アミノ酸位置 49 においては、ヒューマナイズド重鎖 P f h z h c 2. 3 の S e r を天然のマウス N F S 2 のこの位置に見いだされるアミノ酸である A l a に変更した。この置換には、例えば、アミノ酸を変化させるための適切なヌクレオチド変化を含む合成 DNA 断片を作製することによるような通常の遺伝子工学的技術を利用した。P f h z h c 2. 3 の断片を X b a I および E c o R V で消化させ、そして S e r コドンの代わりに A l a をコード化するヌクレオチド変化を生じているこの合成断片を挿入してアミノ酸置換を生じさせる。得られる重鎖を P f h z h c 2. 6 と命名した。

この合成重鎖を、P f h z h c 2. 3 合成重鎖について既に記載したように発現させた。このヒューマナイズド重鎖配列についての発現プラスミドは、既に記載した単一のアミノ酸の違いを除いては本質的に図 7 に示される発現プラスミドと相同である。

同様に、P f h z h c 2. 6 重鎖と P f h z l c 1. 1 軽鎖および P f h z h c 2. 6 重鎖と P f h z l c 1. 2 軽鎖からなるヒューマナイズド抗体を、哺乳類細胞の同時トランスフェクションを介して組み立て、

そして以下の実施例 5 に記載される E L I S A により抗体活性についてのアッセイを行った。

P. ファルキパルムに特異的な他の高親和性抗体を、最低限の可変領域フレームワーク修正を達成するために設計された類似の方法を使用して開発することができる。この方法には、以下に示される順の改変および検査段階が必要であり、それは、

(1) アミノ酸位置49の改変に加え、CDRとの相互作用にとって重要であることが知られる他の個々のフレームワークアミノ酸残基を初代抗体および工学的処理の施されたCDR－置換抗体のものと比較する。

例えば、重鎖アミノ酸残基（カバットの番号付（K a b a t   n u m b e r i n g）、先に引用されるK a b a t   e t   a l. を参照せよ）を、初代抗体（供与体）および工学的処理の施された抗体のものと比較する。この位置の残基は、塩橋を介して位置94にある非変異重鎖CDR残基（L y s－塩基性）と相互作用を行うと考えられる。

あるアミノ酸が受容体抗体のフレームワーク内に存在するが工学的処理の施された抗体のフレームワーク内には存在しない場合には、工学的処理の施された抗体を含む代替（a l t e r n a t i v e）重鎖遺伝子が産生される。工学的処理の施された抗体のフレームワークがある位置にある残基を含むが供与体抗体はそれを含まないという逆の状況においては、その位置のもともとのアミノ酸を含む代替重鎖遺伝子が再生される。更に詳しいいずれかの分析を行う前に、この基本にのって産生される代替プラスミドを、高親和性工学的処理の施された抗体の産生について検査する。

(2) コバット（先に引用されるK a b a t   e t   a l. を参照せ

よ）に従って特定されるCDRの4つの残基内のフレームワークアミノ酸を、初代抗体および工学的CDR－置換抗体のものと比較する。差異が存在する場合には、各領域についてその領域の特有なアミノ酸を工学的処理の施された抗体の対応する領域内のものと置換して、少数の工学的処理の施された遺伝子を提供する。その後この基本にのって産生される代替プラスミドを、高親和性抗体の産生について検査する。

(3) 初代抗体および工学的CDR－置換抗体内のフレームワーク残基を比較し、そして電荷、サイズ、もしくは疎水性における主要な差異が生じている残基をハイライトで強調させる。ハイライトで強調させた個々のアミノ酸が初代抗体の対応するアミノ酸により表示される代替プラスミドをこの基本にのって作製し、そしてこのような代替プラスミドを高親和性抗体の産生について検査する



。

#### 実施例5：ELISAアッセイ

合成重鎖および軽鎖配列の発現は、プラスミドDNAをサルCOS細胞内に一時的にトランスフェクトさせることにより検査した。以下に示される結果が、Pfzhzc2-3およびPfzhzc1-1について報告されている。10マイクログラムの各プラスミドと一緒に混ぜ合わせ、そしてエタノール沈殿を行った。DNAをトリス緩衝化食塩水(TBS)中に溶かし、そしてDEAE-デキストラン(最終濃度400 $\mu$ g/ml)/クロロキン(0.1mM)と混合させ、T25フラスコ内で増殖させた3-4 $\times 10^5$ のCOS細胞に添加し、37℃で4時間インキュベートした。リン酸緩衝化食塩水(PBS)中の10%DMSOで細胞に1-2分間ショックを与え、そしてPBSでの洗浄後に細胞を血清非含有性増殖培地の存在下でインキュベートした。培地をトランス

フェクション後72時間目に回収し(3日目の試料)、そして新鮮な培地を添加し、これをトランスフェクション後120時間目に回収した(5日目試料として引用)。

種々の抗体、すなわちキメラ抗体およびヒューマナイズド抗体の結合親和性を比較するために、大容量のCOSトランスフェクションを先に記載のように実施した。各抗体について200 $\mu$ gの重鎖プラスミドおよび200 $\mu$ gの軽鎖プラスミドDNAを使用して、合計2.5 $\times 10^7$ のCOS細胞をトランスフェクトした。回収した培地(3日目および5日目)を合わせ、F<sub>0</sub>捕獲ELISAを使用して抗体発現についてのアッセイを行った。アミコン(Amicon)を使用してこの培地を6mlに濃縮した。合わせた培地中の抗体量は、9mg/mlから25mg/mlまで変化した。これらの濃縮試料を使用して、ISIおよびILSDAアッセイを介する結合親和性比較を行った。

トランスフェクトしたクローンを含む各ウェルの培地中のヒューマナイズド抗体の存在を、通常のELISA技術により測定する。マイクロタイタープレートで、4℃下において一晚、ウェル当たり0.1 $\mu$ gのヤギ抗-ヒトIgG(F<sub>0</sub>特異的)抗体[Sigma社、St. Louis、MO]でコーティングする。

PBS (pH 7.5) での洗浄後、トランスフェクト体を含む各ウェルからの 50  $\mu$ l の培養培地を、室温において 2 時間、各マイクロタイターウェルに添加する。その後各ウェルを空にし、PBS で洗浄し、そしてパーオキシダーゼ結合化ヤギ抗-ヒト IgG 抗体 [BioRad 社、Richmond, CA] を、ウェル当たり 50  $\mu$ l の 1/1000 希釈液として添加する。その後プレートを室温において 1 時間インキュベートする。その後各ウェルを空に

し、そして PBS で洗浄する。100  $\mu$ l の 2, 2' -アジノージ [3-エチル-スルホン酸ベンズチアゾリン (6)] を各ウェルに添加する。室温において 1 時間反応を行わせた。その後 405 nm における吸光度を分光測光により測定した。トランスフェクトさせたクローンを含む各ウェルの培地中のヒューマナイズド抗体の、P. フェルキパルムの環状分裂体蛋白質への結合能を ELISA により測定した。マイクロタイタープレートを 4℃ において一晩、ウェル当たり、大腸菌により産生される 0.1  $\mu$ g の R32 tet 32 でコーティングした。PBS での洗浄後、トランスフェクト体を含む各ウェルからの 50  $\mu$ l の培養培地を、室温において 2 時間、各マイクロタイターウェルに添加する。その後これらのウェルを空にさせ、PBS で洗浄し、そしてパーオキシダーゼに結合させたヤギ抗-ヒト IgG 抗体 [BioRad 社、Richmond, CA] を、ウェル当たり 50  $\mu$ l の 1/1000 希釈液として添加する。その後プレートを室温において 1 時間インキュベートする。その後各ウェルを空にさせ、そして PBS で洗浄する。100  $\mu$ l の 2, 2' -アジノージ [3-エチル-スルホン酸ベンズチアゾリン (6)] をウェル当たりに添加する。室温において 1 時間反応を行わせた。その後 405 nm における吸光度を分光測光により測定した。

予備研究により、Pfzhc 2-3 重鎖構築物と比較した際、親和性の増大は Pfzhc 2-6 重鎖構築物を含む実施例 4 のヒューマナイズド抗体について観察された。

#### 実施例 6 - キメラ抗体の作製

本発明のキメラ抗体は、主に先に記載のように作製した。キメラ抗体は、重鎖 [H. Dersimonian et al., J. Immu

n o l . 、 1 3 9 : 2 4 9 6 - 2 5 0 1 ( 1 9 8 7 ) ] および軽鎖 [ K o l b e c k e t a l . 、 N u c l . A c i d s . R e s . 、 1 3 : 6 5 1 5 - 6 5 2 9 ( 1 9 8 5 ) ] について選択されたヒト不変領域上に天然のマウスNSF2可変フレームワークおよびCDR領域を含み、例外は、可変領域がNFS2ハイブリドーマから取得されたマウス抗体のRNAのPCRにより取得され、そしてヒトIgG<sub>1</sub>抗体の全不変領域をオリゴヌクレオチドの重複により合成し、そしてPCRにより増幅させた点である。PCRにより挿入されるエラーはいずれも訂正した。得られるキメラ重鎖およびキメラ軽鎖を、ヒューマナイズド抗体について先に記載するように発現させた。

このキメラ抗体は天然のマウス抗体のものと実質的に相同な活性を特徴とするという利点があるが、ヒト治療において有用であることが期待される十分なヒト配列を含む。

#### 実施例7-ISIアッセイ

生きたP. ファルキパルム分裂体に対する中和効果を評定するために用いられる分裂体侵入阻害アッセイ ( I n h i b i t i o n o f S p o r o z o i t e I n v a s i o n a s s a y ) を、M. R. H o l l i n g d a l e e t a l . 、 J . I m m u n o l . 、 1 3 2 : 9 0 9 - 9 1 3 ( 1 9 8 4 ) において記載されるように実施した。このISIアッセイにおいては、ヒト肝癌のクローン化細胞株He p G 2 - A 1 6<sub>2</sub>をほぼ密集状態まで、MEMおよび10%のウシ胎児血清中の1%CO<sub>2</sub>ガラスカバー片上で増殖させた。抗血清もしくは精製済み抗体を培養培地中で希釈し（以下の表を参照せよ）、そして細胞培養物に添加した。切除した蚊の唾液腺から単離した30,000のP. ファル

キパルム分裂体を計数し、希釈し、そして各細胞培養物に添加した。この培養物を37℃において2.5時間インキュベートし、PESですすぎ、そしてメタノールで固定した。侵入した分裂体を可視化させるためにP. ファルキパルムCS蛋白質を認識するラベル化mAbを用いて、その固定化培養物を免疫パーオキシダーゼ抗体中で反応させる。その後、侵入している分裂体の数を位相差顕微鏡により400倍下で計測する。ISIは、対照（すなわち、非関連の）抗体と比較

した際の、検査抗体、すなわちヒューマナイズド抗体の存在下における侵入のパーセント減少率である。このアッセイにより、抗体をその相対的効力の順に従って等級付する。

以下に示す表により、既に記載されるキメラ抗体および合成抗体について実施した結果が示される。与えられる値はパーセント阻害値であり、そしてこれらは2-3回分の独立したアッセイの平均値である。

| 抗体量<br>( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ): | I S I 実験のまとめ |      |     |     |     |     |
|-------------------------------------|--------------|------|-----|-----|-----|-----|
|                                     | 20           | 10   | 5.0 | 2.0 | 1.0 | 0.1 |
| キメラ抗体                               | 99           | 98.5 | 98  | 88  | 63  | 50  |
| PfHzhc2-3/lc1-1                     | 92           | 75.5 |     | 60  |     |     |
| PfHzhc2-3/lc1-2                     | 85           | 80.0 |     | 0   |     |     |
| PfHzhc2-6/lc1-1                     |              | 90.0 | 75  |     | 53  | 0   |
| PfHzhc2-6/lc1-2                     |              | 87.0 | 65  |     | 50  | 0   |

本発明の多大な数にのぼる修正物および変更物が先に明示される明細書に含まれており、そしてこれらは当業者には明白であることが予期される。例えば、P. ファルキパルム以外の病原体を中和することが可能な組換え抗体を、他のヒト疾患に受動免疫を付与することが可能な予

防剤の開発についての本発明の教示に従って提供することが可能である。他のマラリア病原体上の反復領域を認識することが可能な工学的処理の施された抗体、あるいはいずれかの生活環段階のプラスモディウム属の表面上のいずれかの領域に対する工学的処理の施された抗体、あるいはこの寄生虫の生活環のいずれかの段階を中和することが可能な工学的処理の施された抗体は、本発明に従う受動免疫剤を開発するための所望される出発物質である。本発明の組成物および方法に対するこのような修正物および改変物は、今後添付される請求の範囲内に含まれるものと見なされる。

#### 配列表

##### (1) 一般情報:

(i) 出願者: SmithKline Beechan, Corporation

U. S. Government, Secretary of  
the Navy

U. S. Government, Secretary of  
the Army

(ii) 発明の名称: ヒトにおける病原体に対する受動免疫を付与するための  
新規の抗体

(iii) 配列数: 61

(iv) 連絡先住所:

(A) 宛て先: Howson and Howson

(B) 街路名: Box 457, 321 Norristown Road

(C) 市: Spring House

(D) 州: PA

(E) 国: USA

(F) 郵便番号: 19477

(v) コンピューター解読可能形態:

(A) メディウム: フロッピーディスク

(B) コンピューター: IBM PC compatible

(C) 操作システム: PC-DOS/MS-DOS

(D) ソフトウェア: Patentln Release #1. 0、Version #1. 25

(vi) 現行の出願データ:

(A) 出願番号:

(B) 提出日:

(C) 分類:

(vii) 以前の出願データ:

(A) 出願番号: US 07/941, 654

- (B) 提出日：1992年9月9日
- (v i i i) 弁理士／代理人情報：
  - (A) 氏名：B a k、M a r y E.
  - (B) 登録番号：31, 215
  - (C) 参照／審査番号：S E C P 5 0 1 0 7
- (x i) テレコミュニケーション情報：
  - (A) 電話番号：(215) 540-9200
  - (B) テレファックス：(215) 540-5818
- (2) 配列番号1についての情報：
  - (i) 配列の特徴：
    - (A) 配列の長さ：164
    - (B) 配列の型：アミノ酸
    - (D) トポロジー：未測定
  - (i i) 配列の種類：蛋白質
  - (x i) 配列：配列番号1：

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | 20  | 25  | 30  |    |
| Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | 35  | 40  | 45  |    |
| Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | 50  | 55  | 60  |    |
| Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | 65  | 70  | 75  |    |
| Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | 80  | 85  | 90  |    |
| Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | 95  | 100 | 105 |    |
| Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | 110 | 115 | 120 |    |
| Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | 125 | 130 | 135 |    |
| Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Val | 140 | 145 | 150 |    |
| Asp | Pro | Asn | Val | Asp | Pro | Asn | Val | Asp | Pro | Asn | Val | Asp | Pro | 155 | 160 |     |     |    |

(2) 配列番号2についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 163

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 未測定

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号2:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Met | Asp | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | 20  | 25  | 30  |    |
| Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | 35  | 40  | 45  |    |
| Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | 50  | 55  | 60  |    |
| Ala | Asn | Pro | Asn | Val | Asp | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | 65  | 70  | 75  |    |
| Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | 80  | 85  | 90  |    |
| Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | 95  | 100 | 105 |    |
| Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | 110 | 115 | 120 |    |
| Ala | Asn | Pro | Asn | Ala | Asn | Pro | Asn | Val | Asp | Pro | Leu | Arg | Arg | Thr | 125 | 130 | 135 |    |
| His | Arg | Gly | Arg | His | His | Arg | Arg | His | Arg | Cys | Gly | Cys | Trp | Arg | 140 | 145 | 150 |    |
| Leu | Tyr | Arg | Arg | His | His | Arg | Trp | Gly | Arg | Ser | Gly | Ser | 155 | 160 |     |     |     |    |

(2) 配列番号3についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 339

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: ゲノムDNA (ix) 配列の特徴:

(A) 名称/記号: CDS

(B) 存在位置: 1..339

(xi) 配列: 配列番号3:



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| GAT | ATT | CAG | CTG | ACC | CAG | TCT | CCA | TCC | TCC | CTA | GCT | GTG | TCA | 42  |
| Asp | Ile | Gln | Leu | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ala | Val | Ser |     |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     |
| GTT | GGA | GAG | AAG | GTT | ACT | ATG | AGC | TGC | AAG | TCC | AGT | CAG | AGC | 84  |
| Val | Gly | Glu | Lys | Val | Thr | Met | Ser | Cys | Lys | Ser | Ser | Gln | Ser |     |
| 15  |     |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |
| CTT | TTA | TAT | AGT | AGC | AAT | CAA | AAG | AAT | TAC | TTG | GCC | TGG | TAC | 126 |
| Leu | Leu | Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu | Ala | Trp | Tyr |     |
|     | 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |
| CAG | CAG | AAA | CCA | GGG | CAG | TCT | CCT | AAA | CTG | CTG | ATT | TAC | TGG | 168 |
| Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Ser | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Trp |     |
|     |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |
| GCA | TCC | ACT | AGG | GAA | TCT | GGG | GTC | CCT | GAT | CGC | TTC | ACA | GGC | 210 |
| Ala | Ser | Thr | Arg | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Thr | Gly |     |
|     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |     |     |     | 70  |     |
| AGA | GGA | TCC | GGG | ACA | GAT | TTC | ACT | CTC | ACC | ATC | AGC | AGT | GTG | 252 |
| Arg | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Val |     |
|     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |     |     |     |     |
| AAG | GCT | GAA | GAC | CTG | GCA | GTT | TAT | TAC | TGT | CAG | CAA | TAT | TAT | 294 |
| Lys | Ala | Glu | Asp | Leu | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr |     |
| 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |     |
| AGC | TAT | CCT | CGG | ACG | TTC | GGT | GGA | GGG | ACC | AAG | CTG | GAG | ATC | 336 |
| Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Leu | Glu | Ile |     |
|     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |
| AAA |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 339 |
| Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

(2) 配列番号4についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 113

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号4:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|
| Asp | Ile | Gln | Leu | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ala | Val | Ser | Val | 1  | 5   | 10  | 15 |
| Gly | Glu | Lys | Val | Thr | Met | Ser | Cys | Lys | Ser | Ser | Gln | Ser | Leu | Leu | 20 | 25  | 30  |    |
| Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | 35 | 40  | 45  |    |
| Pro | Gly | Gln | Ser | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Trp | Ala | Ser | Thr | Arg | 50 | 55  | 60  |    |
| Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Thr | Gly | Arg | Gly | Ser | Gly | Thr | 65 | 70  | 75  |    |
| Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Val | Lys | Ala | Glu | Asp | Leu | Ala | 80 | 85  | 90  |    |
| Val | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr | Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe | Gly | 95 | 100 | 105 |    |
| Gly | Gly | Thr | Lys | Leu | Glu | Ile | Lys | 110 |     |     |     |     |     |     |    |     |     |    |

(2) 配列番号5についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 339

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(i i) 配列の種類: ゲノムDNA

(i x) 配列の特徴:

(A) 名称/記号: CDS

(B) 存在位置: 1..339

(x i) 配列: 配列番号5:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| GAT | ATC | GTG | ATG | ACC | CAG | TCT | CCA | GAC | TCG | CTA | GCT | GTG | TCT | 42  |
| Asp | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Asp | Ser | Leu | Ala | Val | Ser |     |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     |
| CTG | GGC | GAG | AGG | GCC | ACC | ATC | AAC | TGC | AAG | AGC | TCT | CAG | AGC | 84  |
| Leu | Gly | Glu | Arg | Ala | Thr | Ile | Asn | Cys | Lys | Ser | Ser | Gln | Ser |     |
| 15  |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     |
| CTT | TTA | TAC | TCG | AGC | AAT | CAA | AAG | AAT | TAC | TTG | GCC | TGG | TAT | 126 |
| Leu | Leu | Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu | Ala | Trp | Tyr |     |
| 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |
| CAG | CAG | AAA | CCC | GGG | CAG | TCT | CCT | AAG | TTG | CTC | ATT | TAC | TGG | 168 |
| Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Ser | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Trp |     |
|     |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |
| GCG | TCA | ACT | AGG | GAA | TCT | GGG | GTA | CCT | GAC | CGA | TTC | AGT | GGC | 210 |
| Ala | Ser | Thr | Arg | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Ser | Gly |     |
|     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |     |     | 70  |     |     |
| AGC | GGG | TCT | GGG | ACA | GAT | TTC | ACT | CTC | ACC | ATC | AGC | AGC | CTG | 252 |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu |     |
|     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |     |     |     |     |     |
| CAG | GCT | GAA | GAT | GTG | GCA | GTA | TAC | TAC | TGT | CAG | CAA | TAT | TAT | 294 |
| Gln | Ala | Glu | Asp | Val | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr |     |
| 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |     |     |
| AGC | TAT | CCG | CGG | ACC | TTC | GGC | GGA | GGG | ACC | AAG | GTG | GAG | ATC | 336 |
| Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile |     |
| 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |
| AAA |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 339 |
| Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

(2) 配列番号6についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 113

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号6:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Asp | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Asp | Ser | Leu | Ala | Val | Ser | Leu | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Gly | Glu | Arg | Ala | Thr | Ile | Asn | Cys | Lys | Ser | Ser | Gln | Ser | Leu | Leu | 20  | 25  | 30  |    |
| Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | 35  | 40  | 45  |    |
| Pro | Gly | Gln | Ser | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Trp | Ala | Ser | Thr | Arg | 50  | 55  | 60  |    |
| Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | 65  | 70  | 75  |    |
| Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Ala | Glu | Asp | Val | Ala | 80  | 85  | 90  |    |
| Val | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr | Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe | Gly | 95  | 100 | 105 |    |
| Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |     |     | 110 |     |     |    |

(2) 配列番号7についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 339

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(i i) 配列の種類: ゲノムDNA

(i x) 配列の特徴:

(A) 名称/記号: CDS

(B) 存在位置: 1..339

(x i) 配列: 配列番号7:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| GAT | ATC | GTG | ATG | ACC | CAG | TCT | CCA | GAC | TCG | CTA | GCT | GTG | TCT | 42  |
| Asp | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Asp | Ser | Leu | Ala | Val | Ser |     |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     |
| CTG | GGC | GAG | AGG | GCC | ACC | ATC | AAC | TGC | AAG | AGC | TCT | CAG | AGC | 84  |
| Leu | Gly | Glu | Arg | Ala | Thr | Ile | Asn | Cys | Lys | Ser | Ser | Gln | Ser |     |
| 15  |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     |
| CTT | TTA | TAC | TCG | AGC | AAT | CAA | AAG | AAT | TAC | TTG | GCC | TGG | TAT | 126 |
| Leu | Leu | Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu | Ala | Trp | Tyr |     |
| 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |
| CAG | CAG | AAA | CCC | GGG | CAG | CCT | CCT | AAG | TTG | CTC | ATT | TAC | TGG | 168 |
| Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Pro | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Trp |     |
|     |     | 45  |     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |
| GCG | TCG | ACT | AGG | GAA | TCT | GGG | GTA | CCT | GAC | CGA | TTC | AGT | GGC | 210 |
| Ala | Ser | Thr | Arg | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Ser | Gly |     |
|     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |     |     |     | 70  |     |
| AGC | GGG | TCT | GGG | ACA | GAT | TTC | ACT | CTC | ACC | ATC | AGC | AGC | CTG | 252 |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu |     |
|     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |     |     |     |     |     |
| CAG | GCT | GAA | GAT | GTG | GCA | GTA | TAC | TAC | TGT | CAG | CAA | TAT | TAT | 294 |
| Gln | Ala | Glu | Asp | Val | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr |     |
| 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |     |     |
| AGC | TAT | CCG | CGG | ACG | TTC | GGC | GGA | GGG | ACC | AAG | GTG | GAG | ATC | 336 |
| Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile |     |
|     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |
| AAA |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 339 |
| Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

(2) 配列番号8についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 1 1 3

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(i i) 配列の種類: 蛋白質

(x i) 配列: 配列番号8:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|
| Asp | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Asp | Ser | Leu | Ala | Val | Ser | Leu | 1  | 5   | 10  | 15 |
| Gly | Glu | Arg | Ala | Thr | Ile | Asn | Cys | Lys | Ser | Ser | Gln | Ser | Leu | Leu | 20 | 25  | 30  |    |
| Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | 35 | 40  | 45  |    |
| Pro | Gly | Gln | Pro | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Trp | Ala | Ser | Thr | Arg | 50 | 55  | 60  |    |
| Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | 65 | 70  | 75  |    |
| Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Ala | Glu | Asp | Val | Ala | 80 | 85  | 90  |    |
| Val | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr | Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe | Gly | 95 | 100 | 105 |    |
| Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys | 110 |     |     |     |     |     |     |    |     |     |    |

(2) 配列番号9についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 3 5 4

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(i i) 配列の種類: ゲノムDNA

(i x) 配列の特徴:

(A) 名称/記号: CDS

(B) 存在位置: 1 . . 3 5 4

(x i) 配列: 配列番号9:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| CTC | GAG | TCT | GGG | GGA | GGC | TTA | GTG | AAG | CCT | GGA | GGG | TCC | CTG | 42  |
| Leu | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Lys | Pro | Gly | Gly | Ser | Leu |     |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     |
| AAA | ATC | TCC | TGC | GCA | GCC | TCT | GGA | TTC | ACT | TTC | AGT | AGC | TAT | 84  |
| Lys | Ile | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr |     |
| 15  |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     |
| GCC | ATG | TCT | TGG | GTT | CGC | CAG | TCT | CCA | GAG | AAG | AGG | CTG | GAG | 126 |
| Ala | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ser | Pro | Glu | Lys | Arg | Leu | Glu |     |
| 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |
| TGG | GTC | GCA | GAA | ATT | AGT | GAT | GGT | GGT | AGT | TAC | ACC | TAC | TAT | 168 |
| Trp | Val | Ala | Glu | Ile | Ser | Asp | Gly | Gly | Ser | Tyr | Thr | Tyr | Tyr |     |
|     |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |
| CCA | GAC | ACT | GTG | ACG | GGC | CGA | TTC | ACC | ATC | TCC | AGA | GAC | AAT | 210 |
| Pro | Asp | Thr | Val | Thr | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn |     |
|     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |     |     |     | 70  |     |
| GCC | AAG | AAC | ACC | CTA | TAC | CTG | GAA | ATG | AGC | AGT | CTG | AGG | TCT | 252 |
| Ala | Lys | Asn | Thr | Leu | Tyr | Leu | Glu | Met | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser |     |
|     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |     |     |     |     |
| GAG | GAC | ACG | GCC | ATG | TAT | TAC | TGT | GCA | AGC | CTC | ATC | TAC | TAT | 294 |
| Glu | Asp | Thr | Ala | Met | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Ser | Leu | Ile | Tyr | Tyr |     |
| 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |     |
| GGT | TAC | GAC | GGG | TAT | GCT | ATG | GAC | TAC | TGG | GGT | CAA | GGA | ACC | 336 |
| Gly | Tyr | Asp | Gly | Tyr | Ala | Met | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr |     |
| 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |     |     |
| TCA | GTC | ACC | GTC | TCC | TCA |     |     |     |     |     |     |     |     | 354 |
| Ser | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 115 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

(2) 配列番号10についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 118

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号10:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|
| Leu | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Lys | Pro | Gly | Gly | Ser | Leu | Lys | 1  | 5   | 10  | 15 |
| Ile | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr | Ala | Met | 20 | 25  | 30  |    |
| Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ser | Pro | Glu | Lys | Arg | Leu | Glu | Trp | Val | Ala | 35 | 40  | 45  |    |
| Glu | Ile | Ser | Asp | Gly | Gly | Ser | Tyr | Thr | Tyr | Tyr | Pro | Asp | Thr | Val | 50 | 55  | 60  |    |
| Thr | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn | Ala | Lys | Asn | Thr | Leu | 65 | 70  | 75  |    |
| Tyr | Leu | Glu | Met | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Met | Tyr | 80 | 85  | 90  |    |
| Tyr | Cys | Ala | Ser | Leu | Ile | Tyr | Tyr | Gly | Tyr | Asp | Gly | Tyr | Ala | Met | 95 | 100 | 105 |    |
| Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Ser | Val | Thr | Val | Ser | Ser | 110 | 115 |    |     |     |    |

(2) 配列番号11についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 389

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(i i) 配列の種類: ゲノムDNA

(i x) 配列の特徴:

(A) 名称/記号: CDS

(B) 存在位置: 1 . . 366

(x i) 配列: 配列番号11:



|            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |            |     |     |     |     |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|
| GAG        | GTG | CAG | CTG | CTC | GAG | TCT | GGG | GGA | GGC | TTG        | GTA | CAG | CCT | 42  |
| Glu        | Val | Gln | Leu | Leu | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu        | Val | Gln | Pro |     |
| 1          |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |            |     |     |     |     |
| GGG        | GGG | TCC | CTG | AGA | CTC | TCC | TGT | GCA | GCT | AGC        | GGA | TTC | ACC | 64  |
| Gly        | Gly | Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser        | Gly | Phe | Thr |     |
| 15         |     |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25         |     |     |     |     |
| TTT        | AGC | AGC | TAT | GCC | ATG | AGC | TGG | GTC | CGC | CAG        | GCT | CCA | GGG | 126 |
| Phe        | Ser | Ser | Tyr | Ala | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln        | Ala | Pro | Gly |     |
|            | 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |            | 40  |     |     |     |
| AAA        | GGT | CTA | GAG | TGG | GTC | TCA | GAA | ATT | AGT | GAT        | GGT | GGT | AGT | 168 |
| Lys        | Gly | Leu | Glu | Trp | Val | Ser | Glu | Ile | Ser | Asp        | Gly | Gly | Ser |     |
|            |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |            |     | 55  |     |     |
| TAC        | ACC | TAC | TAT | CCA | GAC | ACT | GTG | ACG | GGC | CGG        | TTC | ACG | ATA | 210 |
| Tyr        | Thr | Tyr | Tyr | Pro | Asp | Thr | Val | Thr | Gly | Arg        | Phe | Thr | Ile |     |
|            |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |            |     |     | 70  |     |
| TCC        | AGA | GAC | AAT | TCC | AAG | AAC | ACG | CTG | TAT | CTG        | CAA | ATG | AAC | 252 |
| Ser        | Arg | Asp | Asn | Ser | Lys | Asn | Thr | Leu | Tyr | Leu        | Gln | Met | Asn |     |
|            |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |            |     |     |     |     |
| AGC        | CTG | AGA | GCC | GAG | GAC | ACT | GCA | GTA | TAT | TAC        | TGT | GCG | AAA | 294 |
| Ser        | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr        | Cys | Ala | Lys |     |
| 85         |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95         |     |     |     |     |
| CTC        | ATC | TAC | TAT | GGT | TAC | GAC | GGG | TAT | GCT | ATG        | GAC | TAC | TGG | 336 |
| Leu        | Ile | Tyr | Tyr | Gly | Tyr | Asp | Gly | Tyr | Ala | Met        | Asp | Tyr | Trp |     |
|            | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |            | 110 |     |     |     |
| GGC        | CAG | GGT | ACC | CTG | GTC | ACC | GTG | AGC | TCA | GCTAGTACCA |     |     |     | 376 |
| Gly        | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | .          |     |     |     |     |
|            |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |            |     |     |     |     |
| AGGGCCCAAG | CTT |     |     |     |     |     |     |     |     |            |     |     |     | 389 |

(2) 配列番号 1 2 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 1 2 2

(B) 配列の型 : アミノ酸

(D) トポロジー : 直鎖状

(i i) 配列の種類 : 蛋白質

(x i) 配列 : 配列番号 1 2 :

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Glu | Val | Gln | Leu | Leu | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln | Pro | Gly | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Gly | Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Phe | Ser | 20  | 25  | 30  |    |
| Ser | Tyr | Ala | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | 35  | 40  | 45  |    |
| Glu | Trp | Val | Ser | Glu | Ile | Ser | Asp | Gly | Gly | Ser | Tyr | Thr | Tyr | Tyr | 50  | 55  | 60  |    |
| Pro | Asp | Thr | Val | Thr | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn | Ser | 65  | 70  | 75  |    |
| Lys | Asn | Thr | Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | 80  | 85  | 90  |    |
| Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Lys | Leu | Ile | Tyr | Tyr | Gly | Tyr | Asp | 95  | 100 | 105 |    |
| Gly | Tyr | Ala | Met | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | 110 | 115 | 120 |    |
| Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |

(2) 配列番号13についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 389

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(i i) 配列の種類: ゲノムDNA

(i x) 配列の特徴:

(A) 名称/記号: CDS

(B) 存在位置: 1..366

(x i) 配列: 配列番号13:

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| GAG GTG CAG CTG CTC GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTA CAG CCT | 42  |
| Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro |     |
| 1 5 10                                                  |     |
| GGG GGG TCC CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCT AGC GGA TTC ACC | 84  |
| Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr |     |
| 15 20 25                                                |     |
| TTT AGC AGC TAT GCC ATG AGC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGG | 126 |
| Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly |     |
| 30 35 40                                                |     |
| AAA GGT CTA GAG TGG GTC TCA GAA ATT AGT GAT GGT GGT AGT | 168 |
| Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Glu Ile Ser Asp Gly Gly Ser |     |
| 45 50 55                                                |     |
| TAC ACC TAC TAT CCA GAC ACT GTG ACC GGC CGG TTC ACG ATA | 210 |
| Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Thr Gly Arg Phe Thr Ile |     |
| 60 65 70                                                |     |
| TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC | 252 |
| Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn |     |
| 75 80                                                   |     |
| AGC CTG AGA GCC GAG GAC ACT GCA GTG TAT TAC TGT GCA TCT | 294 |
| Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser |     |
| 85 90 95                                                |     |
| CTC ATC TAC TAT GGT TAC GAC GGG TAT GCT ATG GAC TAC TGG | 336 |
| Leu Ile Tyr Tyr Gly Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp |     |
| 100 105 110                                             |     |
| GGC CAA GGT ACC CTG GTC ACC GTG AGC TCA GCTAGTACCA      | 376 |
| Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                 |     |
| 115 120                                                 |     |
| AGGGCCCAAG CTT                                          | 389 |

(2) 配列番号 14 についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 122

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号 14:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Glu | Val | Gln | Leu | Leu | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln | Pro | Gly | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Gly | Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Phe | Ser | 20  | 25  | 30  |    |
| Ser | Tyr | Ala | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | 35  | 40  | 45  |    |
| Glu | Trp | Val | Ser | Glu | Ile | Ser | Asp | Gly | Gly | Ser | Tyr | Thr | Tyr | Tyr | 50  | 55  | 60  |    |
| Pro | Asp | Thr | Val | Thr | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn | Ser | 65  | 70  | 75  |    |
| Lys | Asn | Thr | Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | 80  | 85  | 90  |    |
| Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Ser | Leu | Ile | Tyr | Tyr | Gly | Tyr | Asp | 95  | 100 | 105 |    |
| Gly | Tyr | Ala | Met | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | 110 | 115 | 120 |    |

Ser Ser

(2) 配列番号15についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 15

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: ゲノムDNA

(xi) 配列: 配列番号15:

AGCTATGCCA TGAGC

15

(2) 配列番号16についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 5

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号16:

Ser Tyr Ala Met Ser  
1 5

(2) 配列番号 17 についての情報:

(i) 配列の特徴:

- (A) 配列の長さ: 51
- (B) 配列の型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: ゲノムDNA

(xi) 配列: 配列番号 17:

GAAATTAGTG ATGGTGSTAG TTACACCTAC TATCCAGACA CTGTGACGGG C 51

(2) 配列番号 18 についての情報:

(i) 配列の特徴:

- (A) 配列の長さ: 17
- (B) 配列の型: アミノ酸
- (D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号 18:

Glu Ile Ser Asp Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr  
1 5 10

Val Thr Gly  
15

(2) 配列番号 19 についての情報:

(i) 配列の特徴:

- (A) 配列の長さ: 39
- (B) 配列の型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 未定

( i i ) 配列の種類 : ゲノム DNA

( x i ) 配列 : 配列番号 19 :

CTCATCTACT ATGGTTACGA CGGGTATGCT ATGGACTAC

39

(2) 配列番号 20 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 13

(B) 配列の型 : アミノ酸

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : 蛋白質

( x i ) 配列 : 配列番号 20 :

Leu Ile Tyr Tyr Gly Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr  
1 5 10

(2) 配列番号 21 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 51

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖の数 : 二本鎖

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : ゲノム DNA

( x i ) 配列 : 配列番号 21 :

AAGAGCTCTC AGAGCCTTTT ATACTCGAGC AATCAAAGA ATTACTTGGC C 51

(2) 配列番号 22 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 17

(B) 配列の型 : アミノ酸

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : 蛋白質

( x i ) 配列 : 配列番号 22 :

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn  
 1 5 10

Tyr Leu Ala  
 15

(2) 配列番号 23 についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 21

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: ゲノムDNA

(xi) 配列: 配列番号 23:

TGGGCGTCAA CTAGGGAATC T

21

(2) 配列番号 24 についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 7

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号 24:

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

(2) 配列番号 25 についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 27

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 未定

( i i ) 配列の種類 : ゲノムDNA

( x i ) 配列 : 配列番号 2 5 :

CAGCAATATT ATAGCTATCC GCGGACG

27

(2) 配列番号 2 6 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 9

(B) 配列の型 : アミノ酸 (D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : 蛋白質

( x i ) 配列 : 配列番号 2 6 :

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Arg Thr  
1 5

(2) 配列番号 2 7 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 6

(B) 配列の型 : アミノ酸

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : 蛋白質

( x i ) 配列 : 配列番号 2 7 :

Pro Asn Ala Asn Pro Asn  
1 5

(2) 配列番号 2 8 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 3 2

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖の数 : 一本鎖

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : ゲノムDNA

( x i ) 配列 : 配列番号 2 8 :



CCAGATGTAA GCTTCAGCTG ACCCAGTCTC CA

32

(2) 配列番号29についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 47

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: ゲノムDNA

(xi) 配列: 配列番号29:

CATCTAGATG GCGCCCCAC AGTACGTTTG ATCTCCAGCT TGGTCCC

47

(2) 配列番号30についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 30

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: ゲノムDNA

(xi) 配列: 配列番号30:

GGGGTACCAG GTCCARCTKC TCGAGTCWGG

30

(2) 配列番号31についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 47

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 未定

(ii) 配列の種類: ゲノムDNA

(xi) 配列: 配列番号31:

GCCTGCAGCT AGCTGAGGAG ACGGTGACCG TGGTCCCTTG GCCCCAG

47

(2) 配列番号 3 2 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 1 5

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖の数 : 二本鎖

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : ゲノム DNA

( x i ) 配列 : 配列番号 3 2 :

AGCTATGCCA TGTCT

15

(2) 配列番号 3 3 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 5

(B) 配列の型 : アミノ酸

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : 蛋白質

( x i ) 配列 : 配列番号 3 3 :

Ser Tyr Ala Met Ser  
1 5

(2) 配列番号 3 4 についての情報 :

( i ) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 5 1

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖の数 : 二本鎖

(D) トポロジー : 未定

( i i ) 配列の種類 : ゲノム DNA

( x i ) 配列 : 配列番号 3 4 :

AAGTCCAGTC AGAGCCTTTT ATATAGTAGC AATCAAAAGA ATTACTTGGC C 51

(2) 配列番号 3 5 についての情報 :

- (i) 配列の特徴：
- (A) 配列の長さ：17
  - (B) 配列の型：アミノ酸
  - (D) トポロジー：未定
- (ii) 配列の種類：蛋白質
- (xi) 配列：配列番号35：

```

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn
  1                      5                      10
Tyr Leu Ala
 15

```

- (2) 配列番号36についての情報：
- (i) 配列の特徴：
- (A) 配列の長さ：21
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：二本鎖
  - (D) トポロジー：未定
- (ii) 配列の種類：ゲノムDNA
- (xi) 配列：配列番号36：

```

TGGGCATCCA CTAGGGAATC T

```

21

- (2) 配列番号37についての情報：
- (i) 配列の特徴：
- (A) 配列の長さ：7
  - (B) 配列の型：アミノ酸
  - (D) トポロジー：未定
- (ii) 配列の種類：蛋白質
- (xi) 配列：配列番号37：

```

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
  1                      5

```

- (2) 配列番号38についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ：27
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：二本鎖
  - (D) トポロジー：未定

- (ii) 配列の種類：ゲノムDNA
- (xi) 配列：配列番号38.

CAGCAATATT ATAGCTATCC TCGGACG

27

- (2) 配列番号39についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ：9
  - (B) 配列の型：アミノ酸
  - (D) トポロジー：未定
- (ii) 配列の種類：蛋白質
- (xi) 配列：配列番号39：

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Arg Thr  
 1 5

- (2) 配列番号40についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ：21
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：二本鎖
  - (D) トポロジー：未定
- (ii) 配列の種類：ゲノムDNA
- (xi) 配列：配列番号40：

TGGGCGTCGA CTAGGGAATC T

21

- (2) 配列番号41についての情報：

- (i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：7

(B) 配列の型：アミノ酸

(D) トポロジー：未定

(i i) 配列の種類：蛋白質

(x i) 配列：配列番号41：

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
1 5

(2) 配列番号42についての情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：366

(B) 配列の型：核酸

(C) 鎖の数：二本鎖

(D) トポロジー：未定

(i i) 配列の種類：ゲノムDNA

(i x) 配列の特徴：

(A) 名称／記号：CDS

(B) 存在位置：1..366

(x i) 配列：配列番号42：

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| GAG | GTG | CAG | CTG | CTC | GAG | TCT | GGG | GGA | GGC | TTG | GTA | CAG | CCT | 42  |
| Glu | Val | Gln | Leu | Leu | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln | Pro |     |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     |
| GGG | GGG | TCC | CTG | AGA | CTC | TCC | TGT | GCA | GCT | AGC | GGA | TTC | ACC | 84  |
| Gly | Gly | Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr |     |
| 15  |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     |
| TTT | AGC | AGC | TAT | GCC | ATG | AGC | TGG | GTC | CGC | CAG | GCT | CCA | GGG | 126 |
| Phe | Ser | Ser | Tyr | Ala | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly |     |
|     | 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |
| AAA | GGT | CTA | GAG | TGG | GTC | GCA | GAG | ATC | TCT | GAT | GGT | GGT | AGT | 168 |
| Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val | Ala | Glu | Ile | Ser | Asp | Gly | Gly | Ser |     |
|     |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |
| TAC | ACC | TAC | TAT | CCA | GAC | ACT | GTG | ACG | GGC | CGG | TTC | ACG | ATA | 210 |
| Tyr | Thr | Tyr | Tyr | Pro | Asp | Thr | Val | Thr | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile |     |
|     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |     |     |     | 70  |     |

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC | 252 |
| Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn |     |
| 75 80                                                   |     |
| AGC CTG AGA GCC GAG GAC ACT GCA GTG TAT TAC TGT GCA TCT | 294 |
| Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser |     |
| 85 90 95                                                |     |
| CTC ATC TAC TAT GGT TAC GAC GGG TAT GCT ATG GAC TAC TGG | 336 |
| Leu Ile Tyr Tyr Gly Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp |     |
| 100 105 110                                             |     |
| GGC CAA GGT ACC CTG GTC ACC GTG AGC TCA                 | 366 |
| Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                 |     |
| 115 120                                                 |     |

(2) 配列番号43についての情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ122

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(i i) 配列の種類: 蛋白質

(x i) 配列: 配列番号43:

|                                                             |  |
|-------------------------------------------------------------|--|
| Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly |  |
| 1 5 10 15                                                   |  |
| Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser |  |
| 20 25 30                                                    |  |
| Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu |  |
| 35 40 45                                                    |  |
| Glu Trp Val Ala Glu Ile Ser Asp Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr |  |
| 50 55 60                                                    |  |
| Pro Asp Thr Val Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser |  |
| 65 70 75                                                    |  |
| Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp |  |
| 80 85 90                                                    |  |
| Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Leu Ile Tyr Tyr Gly Tyr Asp |  |
| 95 100 105                                                  |  |
| Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val |  |
| 110 115 120                                                 |  |
| Ser Ser                                                     |  |

(2) 配列番号44についての情報:

- ( i ) 配列の特徴 :
- (A) 配列の長さ : 9 7
- (B) 配列の型 : 核酸
- (C) 鎖の数 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 未定
- ( i i ) 配列の種類 : ゲノムDNA
- ( x i ) 配列 : 配列番号 4 4 :

|                                                        |    |
|--------------------------------------------------------|----|
| TAGTGAAGAA TTCGAGGACG CCAGCAACAT GGTGTTGCAG ACCCAGGTCT | 50 |
| TCATTTCTCT GTTGCTCTGG ATCTCTGGTG CCTACGGGGA GGTGCAG    | 97 |

(2) 配列番号 4 5 についての情報 :

- ( i ) 配列の特徴 :
- (A) 配列の長さ 1 6 4
- (B) 配列の型 : 核酸
- (C) 鎖の数 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 未定
- ( i i ) 配列の種類 : ゲノムDNA
- ( x i ) 配列 : 配列番号 4 5 :

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| GCTAGCGGAT TCACCTTTTAG CAGCCATGTC GGACCCCCCA GGGACTCTGA | 50  |
| GAGGACACGT CGATCGCCTA AGTGGAAATC CTATGCCATG AGCTGGGTCC  | 100 |
| GCCAGGCTCC AGGGAAAGGT CTAGAGTGGG TCTCAGAAAT CTTTATAGTG  | 150 |
| ATGGTGGTAG TTAC                                         | 164 |

(2) 配列番号 4 6 についての情報 :

- ( i ) 配列の特徴 :
- (A) 配列の長さ 1 6 4
- (B) 配列の型 : 核酸
- (C) 鎖の数 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 未定
- ( i i ) 配列の種類 : ゲノムDNA
- ( x i ) 配列 : 配列番号 4 6 :

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| GAACACGCTG TATCTGCAAA TGAACAGCCT GAGAGCCGAG GACACGTCTC  | 50  |
| TGTTAAGGTT CTTGTGCGAC ATAGACGTTT ACTGCAGTAT ATTACTGTGC  | 100 |
| GAAACTCATC TACTATGGTT ACGACGGGTA TGCTATGGAC TAGCTGCCCCA | 150 |
| TACGATACCT GATC                                         | 164 |

(2) 配列番号 47 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

- (A) 配列の長さ 85
- (B) 配列の型 : 核酸
- (C) 鎖の数 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 未定

(i i) 配列の種類 : ゲノム DNA

(x i) 配列 : 配列番号 47 :

|                                                        |    |
|--------------------------------------------------------|----|
| TTCTTGAAAG CTTGGGCCCT TGGTACTAGC TGAGCTCACG GTGACCAGGG | 50 |
| TACCCTGGCC CCAGTAGTCC ATAGCATACC CGTCG                 | 85 |

(2) 配列番号 48 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

- (A) 配列の長さ 102
- (B) 配列の型 : 核酸
- (C) 鎖の数 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 未定

(i i) 配列の種類 : ゲノム DNA

(x i) 配列 : 配列番号 48 :

|                                                            |     |
|------------------------------------------------------------|-----|
| CATTTGCAGA TACAGCGTGT TCTTGAATT GTCTCTGGAT ATCGTGAACC      | 50  |
| GGCCCCGTCAC AGTGTCTGGA TAGTAGGTGT AACTACCACC ATCACTAATT TC | 102 |

(2) 配列番号 49 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

- (A) 配列の長さ 101
- (B) 配列の型 : 核酸



- (C) 鎖の数：一本鎖
- (D) トポロジー：未定
- (i i) 配列の種類：ゲノムDNA
- (x i) 配列：配列番号49：

CTAAAGGTGA ATCCGCTAGC TGCACAGGAG AGTCTCAGGG ACCCCCCAGC 50

CTGTACCAAG CCTCCCCCAG ACTCGAGCAG CTGCACCTCC CCGTAGGCAC C 101

(2) 配列番号50についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ25

- (B) 配列の型：核酸
- (C) 鎖の数：一本鎖
- (D) トポロジー：未定
- (i i) 配列の種類：ゲノムDNA
- (x i) 配列：配列番号50：

CCGCGAATTC GAGGACGCCA GCAAC 25

(2) 配列番号51についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ28
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：一本鎖
  - (D) トポロジー：未定
- (i i) 配列の種類：ゲノムDNA
- (x i) 配列：配列番号51：

CCGCAAGCTT GGGCCCTTGG TACTAGCT 28

(2) 配列番号52についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ75
  - (B) 配列の型：核酸

- (C) 鎖の数：一本鎖
- (D) トポロジー：未定
- (i i) 配列の種類：ゲノムDNA
- (x i) 配列：配列番号52：

TAAGCGGAAT TCGTAGTCGG ATATCGTGAT GACCCAGTCT CCAGACTCGC 50

TAGCTGTGTC TCTGGGCGAG AGGGC 75

(2) 配列番号53についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ90
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：一本鎖
  - (D) トポロジー：未定
- (i i) 配列の種類：ゲノムDNA
- (x i) 配列：配列番号53：

TTACTTGGCC TCGTATCAGC AGAAACCCGG GCAGTCTCCT AAGTTGCTCA 50

TAGTTTTCTT AATGAACCGG ACTTACTGGG CGTCAACTAG 90

(2) 配列番号54についての情報：

- (i) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ93
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：一本鎖
  - (D) トポロジー：未定
- (i i) 配列の種類：ゲノムDNA
- (x i) 配列：配列番号54：

GACAGATTTC ACTCTCACCA TCAGCAGCCT GCAGGCTGAA GATGTGGCAG 50

TATACTACTG CTGTCTAAAG TGTCAGCAAT ATTATAGCTA TCC 93

(2) 配列番号55についての情報：

- (i) 配列の特徴：

- (A) 配列の長さ 8 6
- (B) 配列の型：核酸
- (C) 鎖の数：一本鎖
- (D) トポロジー：未定
- ( i i ) 配列の種類：ゲノムDNA
- ( x i ) 配列：配列番号 5 5：

CAGTTGGAAA GCTTGGCGCC GCCACAGTAC GTTTGATCTC CACCTTGGTC 50

CCTCCGCCGA ACGTCCGCGG ATAGCTATAA TATTGC 56

(2) 配列番号 5 6 についての情報：

- ( i ) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ 6 6
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：一本鎖
  - (D) トポロジー：未定
- ( i i ) 配列の種類：ゲノムDNA
- ( x i ) 配列 配列番号 5 6：

GTGAAATCTG TCCCAGACCC GCTGCCACTG AATCGGTCAG GTACCCCAGA 50

TTCCCTAGTT GACGCC 66

(2) 配列番号 5 7 についての情報：

- ( i ) 配列の特徴：
  - (A) 配列の長さ 7 8
  - (B) 配列の型：核酸
  - (C) 鎖の数：一本鎖
  - (D) トポロジー：未定

( i i ) 配列の種類：ゲノムDNA

( x i ) 配列：配列番号 5 7：

CAGGCCAAGT AATTCTTTTG ATTGCTCGAG TATAAAAGGC TCTCAGAGCT 50

CTTGCAAGTTG ATGGTGGCCC TCTCGCCC 78

(2) 配列番号 58 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ 30

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖の数 : 一本鎖

(D) トポロジー : 未定

(i i) 配列の種類 : ゲノム DNA

(x i) 配列 : 配列番号 58 :

GCGGAATTCC TAGTCGGATA TCGTGATGAC

30

(2) 配列番号 59 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ 34

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖の数 : 一本鎖

(D) トポロジー : 未定

(i i) 配列の種類 : ゲノム DNA

(x i) 配列 : 配列番号 59 :

TGGAAAGCTT GGCGCCCCCA CAGTACGTTT GATC

34

(2) 配列番号 60 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ 57

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖の数 : 二本鎖

(D) トポロジー : 未定

(i i) 配列の種類 : ゲノム DNA

(i x) 配列の特徴 :

(A) 名称 / 記号 : CDS

(B) 存在位置 : 1 . . 57

(x i) 配列 : 配列番号 6 0 :

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| ATG | GTG | TTG | CAG | ACC | CAG | GTC | TTC | ATT | TCT | CTG | TTG | CTC | TGG | 42 |
| Met | Val | Leu | Gln | Thr | Gln | Val | Phe | Ile | Ser | Leu | Leu | Leu | Trp |    |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |    |
| ATC | TCT | GGT | GCC | TAC |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 57 |
| Ile | Ser | Gly | Ala | Tyr |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
| 15  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |

(2) 配列番号 6 1 についての情報 :

(i) 配列の特徴 :

- (A) 配列の長さ 1 9
- (B) 配列の型 : アミノ酸
- (D) トポロジー : 直鎖状

(i i) 配列の種類 : 蛋白質

(x i) 配列 : 配列番号 6 1 :

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Val | Leu | Gln | Thr | Gln | Val | Phe | Ile | Ser | Leu | Leu | Leu | Trp | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Ser | Gly | Ala | Tyr |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

FIGURE 1

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| GAT        | ATT        | CAG        | CTG        | ACC        | CAG        | TCT        | CCA        | TCC        | TCC        | CTA        | 33  |
| Asp        | Ile        | Gln        | Leu        | Thr        | Gln        | Ser        | Pro        | Ser        | Ser        | Leu        |     |
| 1          |            |            |            | 5          |            |            |            |            | 10         |            |     |
| GCT        | GTG        | TCA        | GTT        | GGA        | GAG        | AAG        | GTT        | ACT        | ATG        | AGC        | 66  |
| Ala        | Val        | Ser        | Val        | Gly        | Glu        | Lys        | Val        | Thr        | Met        | Ser        |     |
|            |            |            | 15         |            |            |            |            | 20         |            |            |     |
| TGC        | AAG        | TCC        | AGT        | CAG        | AGC        | CTT        | TTA        | TAT        | AGT        | AGC        | 99  |
| Cys        | <u>Lys</u> | <u>Ser</u> | <u>Ser</u> | <u>Gln</u> | <u>Ser</u> | <u>Leu</u> | <u>Leu</u> | <u>Tyr</u> | <u>Ser</u> | <u>Ser</u> |     |
|            | 25         |            |            |            |            | 30         |            |            |            |            |     |
| AAT        | CAA        | AAG        | AAT        | TAC        | TTG        | GCC        | TGG        | TAC        | CAG        | CAG        | 132 |
| <u>Asn</u> | <u>Gln</u> | <u>Lys</u> | <u>Asn</u> | <u>Tyr</u> | <u>Leu</u> | <u>Ala</u> | <u>Trp</u> | <u>Tyr</u> | <u>Gln</u> | <u>Gln</u> |     |
|            | 35         |            |            |            |            | 40         |            |            |            |            |     |
| AAA        | CCA        | GGG        | CAG        | TCT        | CCT        | AAA        | CTG        | CTG        | ATT        | TAC        | 165 |
| Lys        | Pro        | Gly        | Gln        | Ser        | Pro        | Lys        | Leu        | Leu        | Ile        | Tyr        |     |
| 45         |            |            |            |            | 50         |            |            |            |            | 55         |     |
| TGG        | GCA        | TCC        | ACT        | AGG        | GAA        | TCT        | GGG        | GTC        | CCT        | GAT        | 198 |
| <u>Trp</u> | <u>Ala</u> | <u>Ser</u> | <u>Thr</u> | <u>Arg</u> | <u>Glu</u> | <u>Ser</u> | <u>Gly</u> | <u>Val</u> | <u>Pro</u> | <u>Asp</u> |     |
|            |            |            | 60         |            |            |            |            | 65         |            |            |     |
| CGC        | TTC        | ACA        | GGC        | AGA        | GGA        | TCC        | GGG        | ACA        | GAT        | TTC        | 231 |
| Arg        | Phe        | Thr        | Gly        | Arg        | Gly        | Ser        | Gly        | Thr        | Asp        | Phe        |     |
|            |            |            | 70         |            |            |            |            | 75         |            |            |     |
| ACT        | CTC        | ACC        | ATC        | AGC        | AGT        | GTG        | AAG        | GCT        | GAA        | GAC        | 264 |
| Thr        | Leu        | Thr        | Ile        | Ser        | Ser        | Val        | Lys        | Ala        | Glu        | Asp        |     |
|            |            | 80         |            |            |            |            | 85         |            |            |            |     |
| CTG        | GCA        | GTT        | TAT        | TAC        | TGT        | CAG        | CAA        | TAT        | TAT        | AGC        | 297 |
| Leu        | Ala        | Val        | Tyr        | Tyr        | Cys        | <u>Gln</u> | <u>Gln</u> | <u>Tyr</u> | <u>Tyr</u> | <u>Ser</u> |     |
|            | 90         |            |            |            |            | 95         |            |            |            |            |     |
| TAT        | CCT        | CGG        | ACG        | TTC        | GGT        | GGA        | GGG        | ACC        | AAG        | CTG        | 330 |
| <u>Tyr</u> | <u>Pro</u> | <u>Arg</u> | <u>Thr</u> | <u>Phe</u> | <u>Gly</u> | <u>Gly</u> | <u>Gly</u> | <u>Thr</u> | <u>Lys</u> | <u>Leu</u> |     |
| 100        |            |            |            |            | 105        |            |            |            |            | 110        |     |
| GAG        | ATC        | AAA        |            |            |            |            |            |            |            |            | 339 |
| Glu        | Ile        | Lys        |            |            |            |            |            |            |            |            |     |

Figure 2

|                |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |               |  |  |     |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------|--|--|-----|
| <u>Eco RV</u>  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Nhe I</u>  |  |  | 39  |
| GAT            | ATC | GTG | ATG | ACC | CAG | TCT | CCA | GAC | TCG | CTA | GCT | GTG |               |  |  |     |
| Asp            | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Asp | Ser | Leu | Ala | Val |               |  |  |     |
| 1              |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |               |  |  |     |
| <u>Sst I</u>   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sst I</u>  |  |  | 78  |
| TCT            | CTG | GGC | GAG | AGG | GCC | ACC | ATC | AAC | TGC | AAG | AGC | TCT |               |  |  |     |
| Ser            | Leu | Gly | Glu | Arg | Ala | Thr | Ile | Asn | Cys | Lys | Ser | Ser |               |  |  |     |
| 15             |     |     |     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |               |  |  |     |
| <u>Xho I</u>   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Xho I</u>  |  |  | 117 |
| CAG            | AGC | CTT | TTA | TAC | TCG | AGC | AAT | CAA | AAG | AAT | TAC | TTG |               |  |  |     |
| Gln            | Ser | Leu | Leu | Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu |               |  |  |     |
|                |     |     | 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |     |               |  |  |     |
| <u>Sma I</u>   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sma I</u>  |  |  | 156 |
| GCC            | TGG | TAT | CAG | CAG | AAA | CCC | GGG | CAG | TCT | CCT | AAG | TTG |               |  |  |     |
| Ala            | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Ser | Pro | Lys | Leu |               |  |  |     |
| 40             |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |               |  |  |     |
| <u>Hinc II</u> |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Kpn I</u>  |  |  | 195 |
| CTC            | ATT | TAC | TGG | GCG | TCA | ACT | AGG | GAA | TCT | GGG | GTA | CCT |               |  |  |     |
| Leu            | Ile | Tyr | Trp | Ala | Ser | Thr | Arg | Glu | Ser | Gly | Val | Pro |               |  |  |     |
|                |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |               |  |  |     |
| <u>Pst I</u>   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Pst I</u>  |  |  | 234 |
| GAC            | CGA | TTC | AGT | GGC | AGC | GGG | TCT | GGG | ACA | GAT | TTC | ACT |               |  |  |     |
| Asp            | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr |               |  |  |     |
|                |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |               |  |  |     |
| <u>Pst I</u>   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Pst I</u>  |  |  | 273 |
| CTC            | ACC | ATC | AGC | AGC | CTG | CAG | GCT | GAA | GAT | GTG | GCA | GTA |               |  |  |     |
| Leu            | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Ala | Glu | Asp | Val | Ala | Val |               |  |  |     |
|                | 80  |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |               |  |  |     |
| <u>I</u>       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sst II</u> |  |  | 312 |
| TAC            | TAC | TGT | CAG | CAA | TAT | TAT | AGC | TAT | CCG | CGG | ACG | TTC |               |  |  |     |
| Tyr            | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr | Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe |               |  |  |     |
|                |     |     | 95  |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     |               |  |  |     |
| <u>Sty I</u>   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sty I</u>  |  |  | 339 |
| GGC            | GGA | GGG | ACC | AAG | GTG | CAG | ATC | AAA |     |     |     |     |               |  |  |     |
| Gly            | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |               |  |  |     |
| 105            |     |     |     |     | 110 |     |     |     |     |     |     |     |               |  |  |     |

Figure 3

|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|--|--|--|-----|
| <u>Eco RV</u> |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Nhe I</u>   |  |  |  | 39  |
| GAT           | ATC | GTG | ATG | ACC | CAG | TCT | CCA | GAC | TCG | CTA | GCT | GTG |                |  |  |  |     |
| Asp           | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Asp | Ser | Leu | Ala | Val |                |  |  |  |     |
| 1             |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sst I</u>   |  |  |  | 78  |
| TCT           | CTG | GGC | GAG | AGG | GCC | ACC | ATC | AAC | TGC | AAG | AGC | TCT |                |  |  |  |     |
| Ser           | Leu | Gly | Glu | Arg | Ala | Thr | Ile | Asn | Cys | Lys | Ser | Ser |                |  |  |  |     |
| 15            |     |     |     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Xho I</u>   |  |  |  | 117 |
| CAG           | AGC | CTT | TTA | TAC | TCG | AGC | AAT | CAA | AAG | AAT | TAC | TTG |                |  |  |  |     |
| Gln           | Ser | Leu | Leu | Tyr | Ser | Ser | Asn | Gln | Lys | Asn | Tyr | Leu |                |  |  |  |     |
|               |     |     | 30  |     |     |     | 35  |     |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sma I</u>   |  |  |  | 156 |
| GCC           | TGG | TAT | CAG | CAG | AAA | CCC | GGG | CAG | CCT | CCT | AAG | TTG |                |  |  |  |     |
| Ala           | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Pro | Pro | Lys | Leu |                |  |  |  |     |
| 40            |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Hinc II</u> |  |  |  | 195 |
| CTC           | ATT | TAC | TGG | GCG | TCG | ACT | AGG | GAA | TCT | GGG | GTA | CCT |                |  |  |  |     |
| Leu           | Ile | Tyr | Trp | Ala | Ser | Thr | Arg | Glu | Ser | Gly | Val | Pro |                |  |  |  |     |
|               |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Kpn I</u>   |  |  |  | 234 |
| GAC           | CGA | TTC | AGT | GGC | AGC | GGG | TCT | GGG | ACA | GAT | TTC | ACT |                |  |  |  |     |
| Asp           | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr |                |  |  |  |     |
|               |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Pst I</u>   |  |  |  | 273 |
| CTC           | ACC | ATC | AGC | AGC | CTG | CAG | GCT | GAA | GAT | GTG | GCA | GTA |                |  |  |  |     |
| Leu           | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Ala | Glu | Asp | Val | Ala | Val |                |  |  |  |     |
|               | 80  |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>I</u>       |  |  |  | 312 |
| TAC           | TAC | TGT | CAG | CAA | TAT | TAT | AGC | TAT | CCG | CGG | ACG | TTC |                |  |  |  |     |
| Tyr           | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr | Ser | Tyr | Pro | Arg | Thr | Phe |                |  |  |  |     |
|               |     |     | 95  |     |     |     | 100 |     |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sst II</u>  |  |  |  | 339 |
| GGC           | GGA | GGG | ACC | AAG | GTG | GAG | ATC | AAA |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
| Gly           | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
| 105           |     |     |     |     | 110 |     |     |     |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
|               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | <u>Sty I</u>   |  |  |  | 339 |
| GGC           | GGA | GGG | ACC | AAG | GTG | GAG | ATC | AAA |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
| Gly           | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |                |  |  |  |     |
| 105           |     |     |     |     | 110 |     |     |     |     |     |     |     |                |  |  |  |     |



FIGURE 4

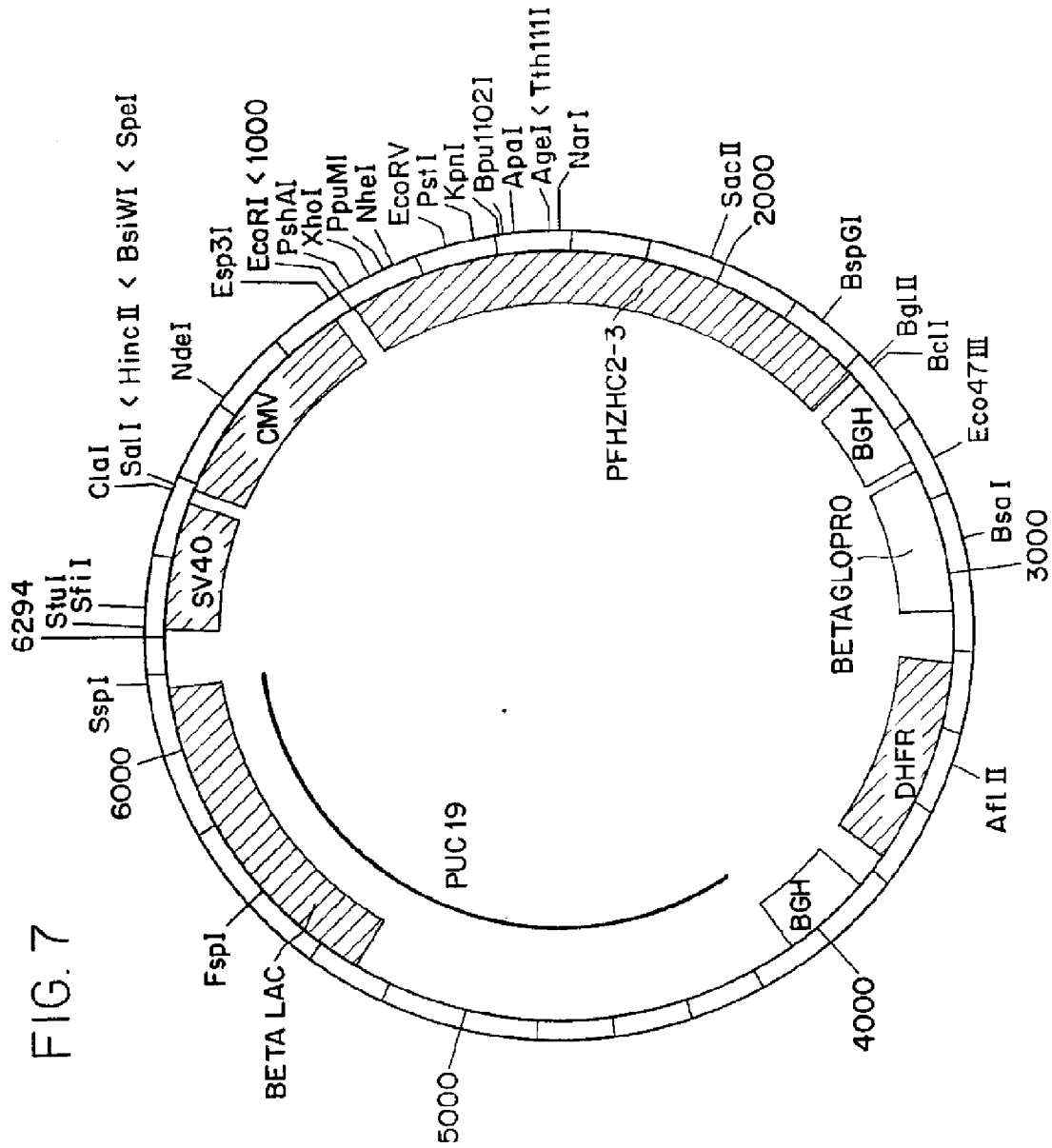
|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| CTC        | GAG        | TCT        | GGG        | GGA        | GGC        | TTA        | GTG        | AAG        | CCT        | 30  |
| Leu        | Glu        | Ser        | Gly        | Gly        | Gly        | Leu        | Val        | Lys        | Pro        |     |
| 1          |            |            |            | 5          |            |            |            |            | 10         |     |
| GGA        | GGG        | TCC        | CTG        | AAA        | ATC        | TCC        | TGC        | GCA        | GCC        | 60  |
| Gly        | Gly        | Ser        | Leu        | Lys        | Ile        | Ser        | Cys        | Ala        | Ala        |     |
|            |            |            |            | 15         |            |            |            |            | 20         |     |
| TCT        | GGA        | TTC        | ACT        | TTC        | AGT        | AGC        | TAT        | GCC        | ATG        | 90  |
| Ser        | Gly        | Phe        | Thr        | Phe        | Ser        | <u>Ser</u> | <u>Tyr</u> | <u>Ala</u> | <u>Met</u> |     |
|            |            |            |            | 25         |            |            |            |            | 30         |     |
| TCT        | TGG        | GTT        | CGC        | CAG        | TCT        | CCA        | GAG        | AAG        | AGG        | 120 |
| <u>Ser</u> | Trp        | Val        | Arg        | Gln        | Ser        | Pro        | Glu        | Lys        | Arg        |     |
|            |            |            |            | 35         |            |            |            |            | 40         |     |
| CTG        | GAG        | TGG        | GTC        | GCA        | GAA        | ATT        | AGT        | GAT        | GGT        | 150 |
| Leu        | Glu        | Trp        | Val        | Ala        | <u>Glu</u> | <u>Ile</u> | <u>Ser</u> | <u>Asp</u> | <u>Gly</u> |     |
|            |            |            |            | 45         |            |            |            |            | 50         |     |
| GGT        | AGT        | TAC        | ACC        | TAC        | TAT        | CCA        | GAC        | ACT        | GTG        | 180 |
| <u>Gly</u> | <u>Ser</u> | <u>Tyr</u> | <u>Thr</u> | <u>Tyr</u> | <u>Tyr</u> | <u>Pro</u> | <u>Asp</u> | <u>Thr</u> | <u>Val</u> |     |
|            |            |            |            | 55         |            |            |            |            | 60         |     |
| ACG        | GGC        | CGA        | TTC        | ACC        | ATC        | TCC        | AGA        | GAC        | AAT        | 210 |
| <u>Thr</u> | <u>Gly</u> | Arg        | Phe        | Thr        | Ile        | Ser        | Arg        | Asp        | Asn        |     |
|            |            |            |            | 65         |            |            |            |            | 70         |     |
| GCC        | AAG        | AAC        | ACC        | CTA        | TAC        | CTG        | GAA        | ATG        | AGC        | 240 |
| Ala        | Lys        | Asn        | Thr        | Leu        | Tyr        | Leu        | Glu        | Met        | Ser        |     |
|            |            |            |            | 75         |            |            |            |            | 80         |     |
| AGT        | CTG        | AGG        | TCT        | GAG        | GAC        | ACG        | GCC        | ATG        | TAT        | 270 |
| Ser        | Leu        | Arg        | Ser        | Glu        | Asp        | Thr        | Ala        | Met        | Tyr        |     |
|            |            |            |            | 85         |            |            |            |            | 90         |     |
| TAC        | TGT        | GCA        | AGC        | CTC        | ATC        | TAC        | TAT        | GGT        | TAC        | 300 |
| Tyr        | Cys        | Ala        | Ser        | <u>Leu</u> | <u>Ile</u> | <u>Tyr</u> | <u>Tyr</u> | <u>Gly</u> | <u>Tyr</u> |     |
|            |            |            |            | 95         |            |            |            |            | 100        |     |
| GAC        | GGG        | TAT        | GCT        | ATG        | GAC        | TAC        | TGG        | GGT        | CAA        | 330 |
| <u>Asp</u> | <u>Gly</u> | <u>Tyr</u> | <u>Ala</u> | <u>Met</u> | <u>Asp</u> | <u>Tyr</u> | Trp        | Gly        | Gln        |     |
|            |            |            |            | 105        |            |            |            |            | 110        |     |
| GGA        | ACC        | TCA        | GTC        | ACC        | GTC        | TCC        | TCA        |            |            | 354 |
| Gly        | Thr        | Ser        | Val        | Thr        | Val        | Ser        | Ser        |            |            |     |
|            |            |            |            | 115        |            |            |            |            |            |     |

Figure 5

|               |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
|---------------|-----|-----|-----|-----|------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <u>Xho I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GAG           | GTG | CAG | CTG | CTC | GAG        | TCT        | GGG | GGA | GGC | TTG | GTA | CAG | 39  |
| Glu           | Val | Gln | Leu | Leu | Glu        | Ser        | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln |     |
| 1             |     |     |     | 5   |            |            |     |     | 10  |     |     |     |     |
| <u>Nhe I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| CCT           | GGG | GGG | TCC | CTG | AGA        | CTC        | TCC | TGT | GCA | GCT | AGC | GGA | 78  |
| Pro           | Gly | Gly | Ser | Leu | Arg        | Leu        | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly |     |
| 15            |     |     |     |     |            | 20         |     |     |     |     | 25  |     |     |
| TTC           | ACC | TTT | AGC | AGC | TAT        | GCC        | ATG | AGC | TGG | GTC | CGC | CAG | 117 |
| Phe           | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr        | Ala        | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln |     |
|               |     |     | 30  |     |            |            |     | 35  |     |     |     |     |     |
| <u>Xba I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GCT           | CCA | GGG | AAA | GGT | CTA        | GAG        | TGG | GTC | TCA | GAA | ATT | AGT | 156 |
| Ala           | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu        | Glu        | Trp | Val | Ser | Glu | Ile | Ser |     |
| 40            |     |     |     |     | 45         |            |     |     |     | 50  |     |     |     |
| GAT           | GGT | GGT | AGT | TAC | ACC        | TAC        | TAT | CCA | GAC | ACT | GTG | ACG | 195 |
| Asp           | Gly | Gly | Ser | Tyr | Thr        | Tyr        | Tyr | Pro | Asp | Thr | Val | Thr |     |
|               |     |     | 55  |     |            |            | 60  |     |     |     |     | 65  |     |
| <u>Eco RV</u> |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GGC           | CGG | TTC | ACG | ATA | TCC        | AGA        | GAC | AAT | TCC | AAG | AAC | ACG | 234 |
| Gly           | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser        | Arg        | Asp | Asn | Ser | Lys | Asn | Thr |     |
|               |     |     |     | 70  |            |            |     |     | 75  |     |     |     |     |
| CTG           | TAT | CTG | CAA | ATG | AAC        | AGC        | CTG | AGA | GCC | GAG | GAC | ACT | 273 |
| Leu           | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn        | Ser        | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | Thr |     |
|               | 80  |     |     |     |            | 85         |     |     |     |     | 90  |     |     |
| <u>Pst I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GCA           | GTA | TAT | TAC | TGT | GCG        | AAA        | CTC | ATC | TAC | TAT | GGT | TAC | 312 |
| Ala           | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala        | Lys        | Leu | Ile | Tyr | Tyr | Gly | Tyr |     |
|               |     |     | 95  |     |            |            | 100 |     |     |     |     |     |     |
| <u>Kpn I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GAC           | GGG | TAT | GCT | ATG | GAC        | TAC        | TGG | GGC | CAG | GGT | ACC | CTG | 351 |
| Asp           | Gly | Tyr | Ala | Met | Asp        | Tyr        | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu |     |
| 105           |     |     |     |     | 110        |            |     |     |     | 115 |     |     |     |
| <u>Sst I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GTC           | ACC | GTG | AGC | TCA | GCTAGTACCA | AGGGCCCAAG | CTT |     |     |     |     |     | 389 |
| Val           | Thr | Val | Ser | Ser |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
|               |     |     | 120 |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |

Figure 6

|               |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
|---------------|-----|-----|-----|-----|------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <u>Xho I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GAG           | GTG | CAG | CTG | CTC | GAG        | TCT        | GGG | GGA | GGC | TTG | GTA | CAG | 39  |
| Glu           | Val | Gln | Leu | Leu | Glu        | Ser        | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln |     |
| 1             |     |     |     | 5   |            |            |     |     | 10  |     |     |     |     |
| <u>Nhe I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| CCT           | GGG | GGG | TCC | CTG | AGA        | CTC        | TCC | TGT | GCA | GCT | AGC | GGA | 78  |
| Pro           | Gly | Gly | Ser | Leu | Arg        | Leu        | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly |     |
| 15            |     |     |     |     |            | 20         |     |     |     |     | 25  |     |     |
| <u>Xba I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| TTC           | ACC | TTT | AGC | AGC | TAT        | GCC        | ATG | AGC | TGG | GTC | CGC | CAG | 117 |
| Phe           | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr        | Ala        | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln |     |
|               |     |     | 30  |     |            |            |     | 35  |     |     |     |     |     |
| <u>Xba I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GCT           | CCA | GGG | AAA | GGT | CTA        | GAG        | TGG | GTC | TCA | GAA | ATT | AGT | 156 |
| Ala           | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu        | Glu        | Trp | Val | Ser | Glu | Ile | Ser |     |
| 40            |     |     |     |     | 45         |            |     |     |     | 50  |     |     |     |
| <u>Eco RV</u> |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GAT           | GGT | GGT | AGT | TAC | ACC        | TAC        | TAT | CCA | GAC | ACT | GTG | ACG | 195 |
| Asp           | Gly | Gly | Ser | Tyr | Thr        | Tyr        | Tyr | Pro | Asp | Thr | Val | Thr |     |
|               |     |     | 55  |     |            |            | 60  |     |     |     | 65  |     |     |
| <u>Eco RV</u> |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GGC           | CGG | TTC | ACG | ATA | TCC        | AGA        | GAC | AAT | TCC | AAG | AAC | ACG | 234 |
| Gly           | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser        | Arg        | Asp | Asn | Ser | Lys | Asn | Thr |     |
|               |     |     |     | 70  |            |            |     |     | 75  |     |     |     |     |
| <u>Pst I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| CTG           | TAT | CTG | CAA | ATG | AAC        | AGC        | CTG | AGA | GCC | GAG | GAC | ACT | 273 |
| Leu           | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn        | Ser        | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | Thr |     |
|               | 80  |     |     |     |            | 85         |     |     |     |     | 90  |     |     |
| <u>Pst I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GCA           | GTG | TAT | TAC | TGT | GCA        | TCT        | CTC | ATC | TAC | TAT | GGT | TAC | 312 |
| Ala           | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala        | Ser        | Leu | Ile | Tyr | Tyr | Gly | Tyr |     |
|               |     |     | 95  |     |            |            | 100 |     |     |     |     |     |     |
| <u>Kpn I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GAC           | GGG | TAT | GCT | ATG | GAC        | TAC        | TGG | GGC | CAA | GGT | ACC | CTG | 351 |
| Asp           | Gly | Tyr | Ala | Met | Asp        | Tyr        | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu |     |
| 105           |     |     |     |     | 110        |            |     |     |     | 115 |     |     |     |
| <u>Sst I</u>  |     |     |     |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
| GTC           | ACC | GTG | AGC | TCA | GCTAGTACCA | AGGGCCCAAG | CTT |     |     |     |     |     | 389 |
| Val           | Thr | Val | Ser | Ser |            |            |     |     |     |     |     |     |     |
|               |     |     | 120 |     |            |            |     |     |     |     |     |     |     |



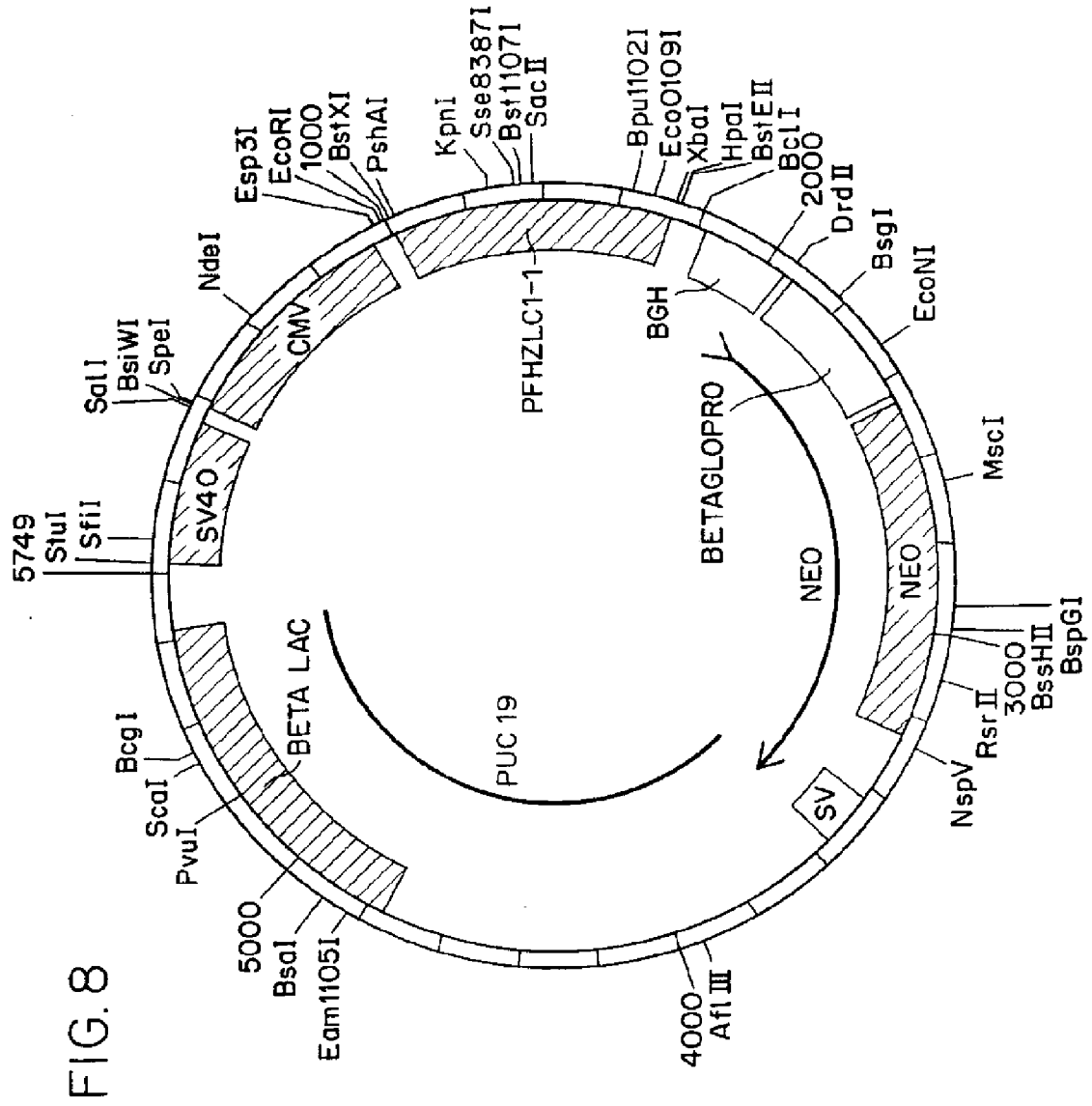


FIGURE 9

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| GAG | GTG | CAG | CTG | CTC | GAG | TCT | GGG | GGA | GGC | TTG | GTA | CAG | 39  |
| Glu | Val | Gln | Leu | Leu | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln |     |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |
| CCT | GGG | GGG | TCC | CTG | AGA | CTC | TCC | TGT | GCA | GCT | AGC | GGA | 78  |
| Pro | Gly | Gly | Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly |     |
|     | 15  |     |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |
| TTC | ACC | TTT | AGC | AGC | TAT | GCC | ATG | AGC | TGG | GTC | CGC | CAG | 117 |
| Phe | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr | Ala | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln |     |
|     |     |     | 30  |     |     |     |     | 35  |     |     |     |     |     |
| GCT | CCA | GGG | AAA | GGT | CTA | GAG | TGG | GTC | GCA | GAG | ATC | TCT | 156 |
| Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val | Ala | Glu | Ile | Ser |     |
| 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     | 50  |     |     |     |
| GAT | GGT | GGT | AGT | TAC | ACC | TAC | TAT | CCA | GAC | ACT | GTG | ACG | 195 |
| Asp | Gly | Gly | Ser | Tyr | Thr | Tyr | Tyr | Pro | Asp | Thr | Val | Thr |     |
|     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     | 65  |     |
| GGC | CGG | TTC | ACG | ATA | TCC | AGA | GAC | AAT | TCC | AAG | AAC | ACG | 234 |
| Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn | Ser | Lys | Asn | Thr |     |
|     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     |
| CTG | TAT | CTG | CAA | ATG | AAC | AGC | CTG | AGA | GCC | GAG | GAC | ACT | 273 |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | Thr |     |
|     | 80  |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |
| GCA | GTG | TAT | TAC | TGT | GCA | TCT | CTC | ATC | TAC | TAT | GGT | TAC | 312 |
| Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Ser | Leu | Ile | Tyr | Tyr | Gly | Tyr |     |
|     |     |     | 95  |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     |     |
| GAC | GGG | TAT | GCT | ATG | GAC | TAC | TGG | GGC | CAA | GGT | ACC | CTG | 351 |
| Asp | Gly | Tyr | Ala | Met | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu |     |
| 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |     | 115 |     |     |     |
| GTC | ACC | GTG | AGC | TCA |     |     |     |     |     |     |     |     | 366 |
| Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US93/08435

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(S) : Please See Extra Sheet.

US CL : 435/240.2, 320.1, 240.27; 424/85.8; 530/387.1, 388.6.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 435/240.2, 320.1, 240.27; 424/85.8; 530/387.1, 388.6.

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS, Biosis, Medline.

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                            | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | EP, O, 270,077 (Nakatani et. al.) 06 August 1988, see entire document.                                                                                                                                                                                        | 6,16-18,25,26         |
| X         | The EMBO Journal, Volume 5, No. 7, issued 1986, Andrew J. Caton et. al., "Structural and functional implications of a restricted antibody response to a defined antigenic region on the influenza virus hemagglutinin", pages 1577-1587, see figures 4 and 5. | 6, 16-18, 25,26       |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

|                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Special categories of cited documents:                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| * "A" document defining the general state of the art which is not considered to be part of particular relevance                                                            | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention                                              |
| * "E" earlier document published on or after the international filing date                                                                                                 | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone                                                                     |
| * "L" documents which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| * "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means                                                                                             | "Z" document member of the same patent family                                                                                                                                                                                                    |
| * "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                  |

Date of the actual completion of the international search

16 December 1993

Date of mailing of the international search report

27 DEC 1993

Name and mailing address of the ISA/US  
Commissioner of Patents and Trademarks  
Box PCT  
Washington, D.C. 20231

Authorized officer

PAULA HUTZELL

Facsimile No. NOT APPLICABLE

Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet)(July 1992)\*

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US93/08435

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                |                       |
|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category*                                             | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                             | Relevant to claim No. |
| Y                                                     | The Journal of Immunology, Volume 139, No.7, issued 01 October 1987, Harout Dersimonian et. al, "Relationship of human variable region heavy chain germ-line genes to genes encoding anti-DNA autoantibodies", pages 2496-2501, see page 2498. | 1-27                  |
| Y                                                     | Bull World Health Organ, 68 Suppl. issued 1990, Mellouk et. al. "Evaluation of an in vitro assay aimed at measuring protective antibodies against sporozoites", pages 52-59, see entire abstract.                                              | 1-27                  |
| Y                                                     | Proceedings of the National Academy of Sciences, Volume 86, issued December 1989, Queen et. al. "A humanized antibody that binds to the interleukin 2 receptor", pages 10029-10033, see entire document.                                       | 1-27                  |

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet)(July 1992)\*



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US93/08435

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

IPC (5):

C07H 21/02, 21/04; C12N 15/70, 15/74, 15/79, 5/10; C07K 15/28; A61K 39/395.

フロントページの続き

|                            |                                                                                                |              |     |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----|
| (51) Int. Cl. <sup>6</sup> | 識別記号                                                                                           | 庁内整理番号       | F I |
| C 0 7 H 21/04              |                                                                                                | B 8615-4C    |     |
| C 0 7 K 16/20              |                                                                                                | 8318-4H      |     |
| C 1 2 N 5/10               |                                                                                                |              |     |
|                            |                                                                                                | 15/02        |     |
| C 1 2 P 21/08              |                                                                                                | 9358-4B      |     |
| /(C 1 2 P 21/08            |                                                                                                |              |     |
| C 1 2 R 1:91)              |                                                                                                |              |     |
|                            | 7729-4B                                                                                        |              |     |
|                            |                                                                                                | C 1 2 N 5/00 | B   |
| (71)出願人                    | ユナイテッド・ステイツ・オブ・アメリカ・アズ・リプレゼンテッド・バイ・ザ・セクレタリー・オブ・ジ・アーミー<br>アメリカ合衆国ワシントンデイシー20031<br>ペンタゴン (番地なし) |              |     |
| (72)発明者                    | グロス, ミツチエル・スチュアート<br>アメリカ合衆国ペンシルベニア州19087ウ<br>エイン・パグロード667                                     |              |     |
| (72)発明者                    | ローゼンバーグ, マーティン<br>アメリカ合衆国ペンシルベニア州19468ロ<br>イヤーズフオード・ミンゴロード241                                  |              |     |
| (72)発明者                    | サドツフ, ジェラルド・チャールズ<br>アメリカ合衆国ワシントンデイシー20012<br>カルミアロード1622                                      |              |     |
| (72)発明者                    | ホフマン, スチープン<br>アメリカ合衆国メリーランド州20878ゲイ<br>ザースバーグ・アーゴジードライブ308                                    |              |     |
| (72)発明者                    | シルベスター, ダニエル・アール<br>アメリカ合衆国ペンシルベニア州19460フ<br>エニツクスビル・ロツシターアベニュー42                              |              |     |
| (72)発明者                    | チャロエンピト, ユピン<br>アメリカ合衆国メリーランド州20902シル<br>バースプリング・スクールハウスサークル<br>2833                           |              |     |
| (72)発明者                    | ハール, マーク<br>アメリカ合衆国ペンシルベニア州19405ブ<br>リτζポート・コロンプスストリート641                                      |              |     |